

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Cirugía**



**TESIS DOCTORAL**

**Estudio de la reparación de las lesiones del manguito rotador mediante  
compuestos transportador-BMP**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Camilla Arvinus**

**Directores**

**Yaiza Lópiz Morales**  
**Fernando Marco Martínez**

**Madrid, 2018**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**



**ESTUDIO DE LA REPARACION DE LAS LESIONES  
DEL MANGUITO ROTADOR MEDIANTE  
COMPUESTOS TRANSPORTADOR-BMP**

**TESIS DOCTORAL DE:**

**CAMILLA ARVINIUS**

**MADRID, 2017**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**



**ESTUDIO DE LA REPARACIÓN DE LAS LESIONES DEL MANGUITO  
ROTADOR MEDIANTE COMPUESTOS TRANSPORTADOR-BMP**

TESIS DOCTORAL DE:

**CAMILLA ARVINIUS**

**DIRECTORES DE TESIS**

**Yaiza Lópiz Morales**

**Fernando Marco Martínez**

**Madrid, 2017**

# INFORME DE LOS DIRECTORES

**D. FERNANDO MARCO MARTÍNEZ**, catedrático del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y jefe de servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica del Hospital Clínico San Carlos y **DÑA YAIZA LÓPIZ MORALES**, profesora del Departamento de Cirugía de la Universidad Complutense de Madrid

## INFORMAN:

Que la tesis titulada **“Estudio de la reparación de las lesiones del manguito rotador mediante compuestos transportador-BMP”** realizada por la Licenciada en Medicina **Dña Camilla Arvinus** y dirigida por los que subscribe, reúne los requisitos necesarios para su exposición y defensa, con el fin de optar al grado de Doctor de Medicina.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, firmamos el presente informe en Madrid a 10 de enero de 2017.

Fernando Marco Martínez

Yaiza Lópiz Morales

# AGRADECIMIENTOS

Al realizar este trabajo he tenido la suerte de poder contar con un gran apoyo. A algunos os conozco desde pequeña y me moldeasteis a ser la que soy. A otros os he conocido a lo largo de mi formación como médico y traumatóloga; sin vuestro apoyo durante estos años mi camino no habría tenido gracia. Y a algunos os he conocido haciendo la tesis, inicialmente nos unía un trabajo en común pero poco a poco se fue formando una amistad.

A nivel técnico he tenido la suerte de contar con un gran apoyo con conocimiento específico complementario y me gustaría reconocer la labor del Departamento de Ciencia de Materiales (UPM) y el Instituto de Estudios Biofuncionales (UCM) con una mención especial a Francisco Javier Rojo Pérez y Jose Luis López Lacomba.

Cruz, gracias por nunca haber dudado en compartir todos tus conocimientos conmigo y por tu espíritu siempre tan optimista que convirtió mis tardes solitarias en el quirófano en momentos bonitos.

Ana Civantos, siempre dispuesta a echarme una mano y gracias a tu gran entusiasmo por la ciencia me abriste las puertas al mundo de los biomateriales.

Dani Gallego: por tu dedicación a hacer las cosas bien hechas y por la paciencia ante mis dudas biomecánicas.

Paula, han pasado una década desde que te conocí y seguimos conquistando cimas juntas! María y Pablo, gracias por nunca dudar en ayudarme y por todo vuestro apoyo. Clara e Ingrid: por siempre haber estado y seguir estando ahí.

Cris, me motivas para intentar sacar lo mejor de mí. Gema, por siempre creer en mí.

Christina, Emilie e Ingrid: vuestro interés me ha dado energía!

A todos los residentes de trauma con los que coincidí en el HCSC 2012-2014: gracias por todos los cambios de guardias y tardes. Sin vuestra ayuda este trabajo no habría sido imposible. En especial a Ana, Laura y Borja por nunca dudar en estar ahí cuando más lo haya necesitado. Miguel, tu soporte informático me ha salvado en varias ocasiones.

Dr Luis López-Durán Stern: gracias por siempre querer formarnos de la mejor forma posible, tanto a nivel personal como profesional.

Dra Yaiza Lópiz, siempre te agradeceré el apoyo incuestionable que me has proporcionado durante estos años al igual que tu gran habilidad para ver las posibilidades cuando yo no las veía. Este trabajo no existiría sin tí.

Dr Fernando Marco, gracias por todo lo que me has enseñado y por siempre pretender que nos superemos a nosotros mismos. Me has hecho crecer como traumatóloga.

Emelie, Mattias & Oscar y Fredric, Hanna & Leon: gracias por haber sido un oasis donde he podido desconectar y por siempre darme animos cuando más los necesito. Juan, por haber estado a mi lado durante todo este camino. Me alegraste las cirugías con tus visitas y en los momentos más duros nunca dejaste de apoyarme, siempre te lo agradeceré. Por último a mis padres; por los valores que me habéis inculcado y por haberme enseñado la belleza de los estudios. Si estoy aquí es gracias a vosotros.



# ÍNDICE

---



## **I. INTRODUCCIÓN ..... 11**

1.1 Anatomía del hombro .....	12
1.1.1 Articulación glenohumeral .....	12
1.1.2 El manguito rotador .....	14
1.2 Estructura tendinosa. Histología .....	18
1.2.1 Matriz extracelular .....	18
1.2.2 Componente celular .....	20
1.2.3 Vascularización e inervación .....	20
1.2.4 Otras estructuras .....	21
1.3 Función y biomecánica del manguito rotador .....	21
1.4 Etiopatogenia de las roturas del manguito .....	24
1.4.1 Fisiopatología .....	24
1.4.2 Etiopatogenia .....	25
1.4.3 Estadíos evolutivos de Neer .....	28
1.5 Biología de la reparación .....	30
1.5.1 Fases de la respuesta reparadora .....	30
1.5.2 Lesiones agudas y crónicas .....	32
1.6 Clasificación de las roturas del manguito rotador .....	34
1.6.1 Según la topografía .....	34
1.6.2 Según el espesor .....	36
1.7 Diagnóstico por imagen .....	40
1.7.1 Radiografía convencional .....	40
1.7.2 Ecografía .....	40
1.7.3 Resonancia magnética .....	43
1.7.4 Artrografía y artroresonancia magnética .....	44
1.8 Epidemiología y repercusión clínica de las lesiones del manguito rotador .....	46
1.8.1 Epidemiología .....	46
1.8.2 Clínica .....	47
1.9 Tratamiento de la patología del manguito rotador .....	51
1.9.1 Tratamiento conservador .....	52
1.9.2 Tratamiento quirúrgico de las roturas del manguito rotador .....	54
1.10 Nuevos enfoques en la reparación del manguito rotador .....	62
1.10.1 Mecánicos .....	62
1.10.2 Biológicos .....	66

## **II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS ..... 76**

2.1 Hipótesis .....	77
2.2 Objetivos .....	78
2.2.1 Objetivo principal .....	78
2.2.2 Objetivos concretos .....	78

<b>III. MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>79</b>
3.1 Animal de experimentación .....	80
3.1.1 Manejo.....	81
3.2 Anestesia y analgesia .....	82
3.3 Materiales empleados .....	85
3.3.1 Reparación.....	85
3.4 Modelo de lesión.....	89
3.4.1 Sección del tendón supraespinoso .....	89
3.4.2 Reparación del tendón supraespinoso .....	93
3.5 Grupos de estudio .....	98
3.6 Método de eutanasia .....	100
3.7 Estudio macroscópico .....	101
3.8 Estudio histológico .....	103
3.8.1 Tinción con Tricrómico de Masson-Goldner .....	104
3.8.2 Tinción con Hematoxilina-Eosina.....	106
3.8.3 Tinción con Rojo Sirio .....	107
3.8.4 Evaluación histológica .....	108
3.9 Estudio biomecánico.....	111
3.10 Estudio estadístico .....	120
 <b>IV. RESULTADOS .....</b>	 <b>122</b>
4.1 Aspecto macroscópico .....	123
4.1.1 Fase I: Modelo de lesión crónica .....	123
4.1.2 Fase II: Reparación y eutanasia .....	124
4.1.3 Peso.....	131
4.2 Resultados histológicos.....	132
4.2.1 Score total .....	134
4.2.2 Matriz.....	136
4.2.3 Zona de transición.....	139
4.2.4 Inflamación de la bursa.....	144
4.2.5 Vascularización.....	147
4.2.6 Celularidad.....	149
4.2.7 Degeneración grasa.....	151
4.2.8 Metaplasia condroide.....	153
4.3 Resultados de biomecánica .....	156
4.3.1 Carga máxima .....	156
4.3.2 Constante elástica .....	160

<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>166</b>
5.1 Modelo experimental	167
5.1.1 Anatomía y biomecánica comparada	167
5.1.2 Modelo de lesión crónica	169
5.1.3 Reparación tendinosa	171
5.1.4 Eutanasia de los animales	176
5.1.5 Desarrollo de técnica de ensayo	177
5.2 Discusión de los resultados	178
5.2.1 Resultados macroscópicos	178
5.2.2 Resultados histológicos	180
5.2.3 Resultados biomecánicos	186
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>189</b>
<b>VII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO Y DIRECTRICES FUTURAS</b>	<b>191</b>
7.1 Limitaciones del estudio	192
7.2 Objetivos alcanzados y directrices futuras	193
<b>VIII. RESUMEN</b>	<b>195</b>
8.1 Resumen	196
8.1.1 Introducción	196
8.1.2 Hipótesis y objetivos	196
8.1.3 Material y método	197
8.1.4 Resultados	197
8.1.5 Conclusiones	198
8.2 Summary	199
8.2.1 Introduction	199
8.2.2 Hypothesis and objectives	200
8.2.3 Material and methods	200
8.2.4 Results	200
8.2.5 Conclusions	202
<b>IX. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>203</b>
9.1 Por orden de aparición en el texto	204
9.2 Por orden alfabético	211
<b>X. ANEXOS</b>	<b>219</b>
10.1 Financiación y aportación científica	220
10.1.1 Financiación	220
10.1.2 Aportación científica	220

I.

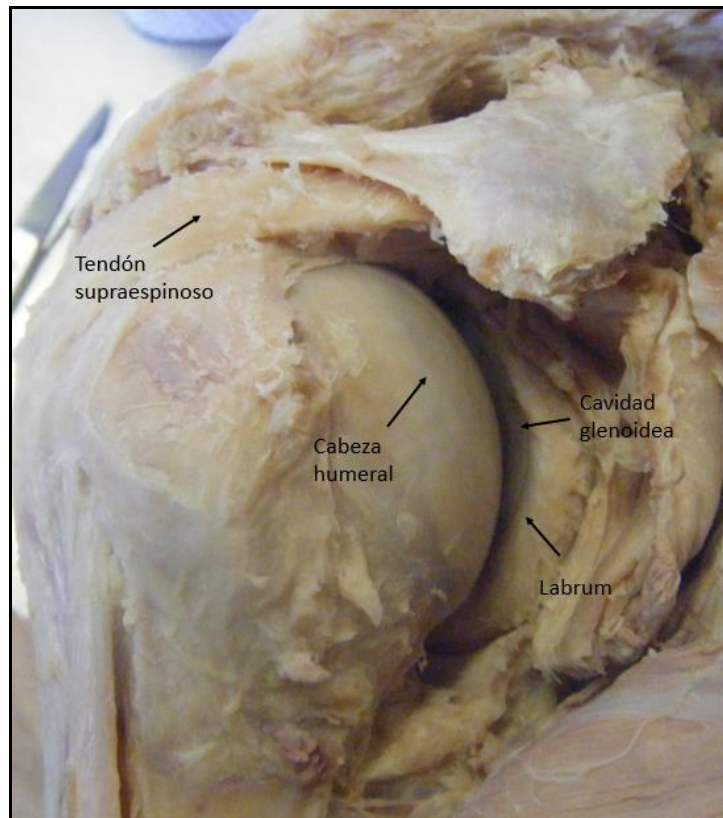
# INTRODUCCIÓN

---

## 1.1 Anatomía del hombro

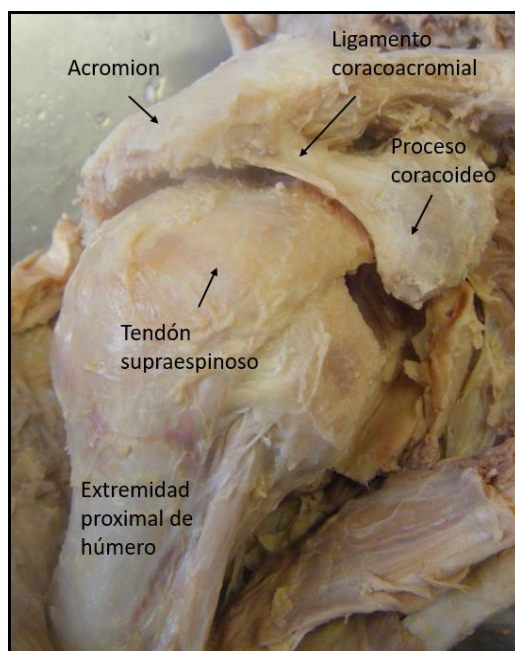
La cintura escapular está constituida por un grupo de articulaciones que en su conjunto se denominan la articulación toracoescapulohumeral y que permiten que el hombro sea la articulación de mayor movilidad del cuerpo humano. Está formada por la articulación glenohumeral, esternoclavicular, acromioclavicular y escapulotorácica (1).

### 1.1.1 Articulación glenohumeral



**Figura 1.1:** Articulación glenohumeral (imagen obtenida con la colaboración del Centro de Donación de Cuerpos y Salas de Disección de la UCM).

La articulación glenohumeral es la articulación principal del hombro (*figura 1.1*). La constituyen la cavidad glenoidea de la escapula y la cabeza humeral que conjuntamente forman una enartrosis sinovial (2). El área de contacto entre la fosa glenoidea y la cabeza humeral es esférica y esto, en combinación con su poca profundidad y una cápsula articular laxa, permite un amplio rango de movimiento de la articulación. La superficie articular de la cavidad glenoidea es menor que la de la cabeza humeral pero se ve ampliada por un tejido fibrocartilaginoso denominado labrum que contribuye hasta en un 20% de la estabilidad glenohumeral (3). En el labrum se insertan la cápsula, los ligamentos glenohumerales superior, medio e inferior y la porción larga del bíceps. La sinovial del hombro recubre la superficie interna de la cápsula (2). Tiene 2 bolsillos extracapsulares: la vaina tenosinovial de la porción larga del bíceps y la bursa por debajo del tendón subescapular. Exterior a esta capa están los tendones del manguito rotador que se fusionan con la cápsula lateralmente.



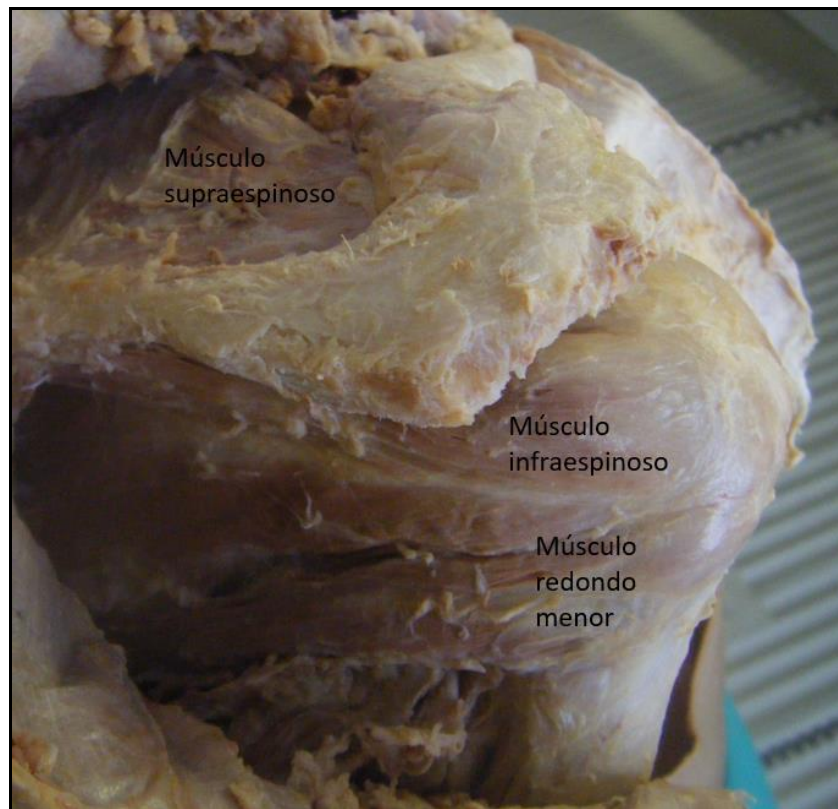
**Figura 1.2:** Arco coracoacromial (imagen obtenida con la colaboración del Centro de Donación de Cuerpos y Salas de Disección de la UCM).

El arco coracoacromial está formado por el proceso coracoideo, el ligamento coracoacromial y el acromion. Funciona como una glena secundaria de la cabeza humeral debajo de la cual se deslizan los tendones del manguito rotador y la porción larga del bíceps (*figura 1.2*) (2,4,5). El arco previene un desplazamiento superior de la cabeza humeral y la protege, igual que al manguito rotador, de traumatismos directos. La bursa subacromial facilita el movimiento del troquín debajo del arco coracoacromial rígido además de funcionar como un amortiguador minimizando el pinzamiento del manguito rotador y la porción larga del bíceps durante la abducción. La bursa subcoracoidea se localiza entre la cápsula glenohumeral y el proceso coracoideo pero rara vez comunica con la articulación. El ligamento coracohumeral se extiende desde el proceso coracoideo hasta el cuello anatómico del húmero y refuerza la cápsula en el intervalo rotador.

Los estabilizadores dinámicos tienen mayor importancia en la estabilidad del hombro que los estáticos. Incluyen 2 capas musculotendinosas: un estrato interno constituido por los músculos del manguito rotador (supraespinoso, infraespinoso, redondo menor y subescapular) y la porción larga del bíceps mientras que el estrato externo está compuesto por el deltoides, redondo mayor, pectoral mayor, dorsal ancho y trapecio.

### **1.1.2 El manguito rotador**

El manguito rotador está situado entre la cabeza humeral y el arco coracoacromial (2). Los tendones del supraespinoso, infraespinoso y redondo menor se insertan conjuntamente en el troquíter y el tendón del subescapular en el troquín (*figura 1.3*). Los tendones se fusionan para formar una única estructura cerca de sus inserciones en el troquín y troquíter, el tendón del supraespinoso y el infraespinoso se unen aproximadamente 15 mm proximales a la inserción humeral y no se pueden separar con disección roma (5,6).



**Figura 1.3:** *Manguito rotador constituido por los músculos supraespinoso, infraespinoso y redondo menor (imagen obtenida con la colaboración del Centro de Donación de Cuerpos y Salas de Disección de la UCM).*

#### 1.1.2.1 Músculo supraespinoso

El supraespinoso se origina en la fosa supraespinosa, con una forma de pirámide triangular de base interna y vértice externo. La parte externa del músculo pasa por debajo del acromion y se continúa con el tendón hasta su inserción fibrocartilaginosa en el troquíter adyacente a la cápsula de la articulación glenohumeral. El tendón se extiende desde la unión musculotendinosa hasta la inserción fibrocartilaginosa donde el patrón fascicular del tendón se continúa con la trama compacta de la inserción. La longitud del tendón es de  $1.8 \pm 0.5$  cm, incluyendo la “zona crítica” cerca de la inserción. Esta zona, descrita por Codman, corresponde a un área de menor vascularización donde las roturas ocurren con mayor frecuencia (7). Es un músculo que se



encuentra inervado por el nervio supraescapular y su acción consiste en la abducción del brazo, igual que el deltoides, además de estabilizar la articulación glenohumeral durante la abducción (5,6).

#### 1.1.2.2 Músculo infraespinoso

El músculo infraespinoso tiene su origen en la fosa infraespinosa. Se inserta en la parte media del troquíter, entre el supraespinoso superiormente y el redondo menor inferiormente. Su porción más externa está cubierta por el deltoides, trapecio, dorsal ancho y redondo mayor pero su parte central no está recubierta, por lo que forma un relieve cutáneo cuando se realiza una abducción glenohumeral. Su inervación también depende del nervio supraescapular y realiza la función de rotación externa del brazo, actuando como ligamento activo de la articulación escapulohumeral al igual que el supraespinoso.

#### 1.1.2.3 Músculo redondo menor

El redondo menor es un músculo de tamaño variable según el individuo, habiendo incluso variantes anatómicas en las que está ausente. Se origina cerca del borde axilar de la escápula en los tabiques fibrosos que lo separan del infraespinoso y redondo mayor y en la cara profunda de la fascia que lo cubre. Con frecuencia este músculo es difícil de aislar del infraespinoso, con el cual a veces se confunde. Su inervación depende del nervio circunflejo de la rama posterior del plexo braquial y realiza las mismas acciones que el músculo infraespinoso.

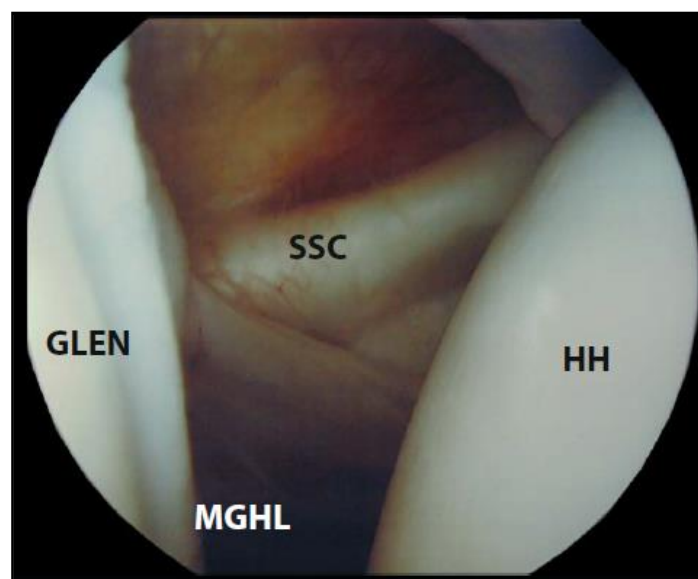
#### 1.1.2.4 Músculo subescapular

El subescapular tiene su origen en la fosa subescapular y se inserta en el troquíen. Tiene un tendón ancho, corto y aplanado y transcurre inferior a la apófisis coracoides. Está inervado por los nervios subescapular superior, medio e inferior y tiene una función de rotación interna del

brazo además de la misma función estabilizadora que el resto del manguito rotador. Debido a su inserción en la cápsula articular evita además el pinzamiento de la cápsula al realizarse la abducción.

#### 1.1.2.5 Músculo biceps braquial

El bíceps braquial está compuesto por dos partes: la porción corta y la porción larga. La porción corta tiene su inserción en el vértice de la apófisis coracoides mientras que la porción larga lo hace en el tubérculo supraglenoideo tras pasar dentro del surco que forma la corredera bicipital del húmero. Su inervación depende de la rama propia del nervio musculocutáneo y tiene dos acciones: es flexor del antebrazo y un potente supinador del mismo.



**Figura 1.4:** Imagen artroscópica de la articulación glenohumeral visualizándose la glenoides (GLEN), la cabeza humeral (HH), el ligamento glenohumeral medio (MHL), el subscapular (SSC) y el intervalo rotador superior al subescapular.

#### 1.1.2.6 Intervalo rotador

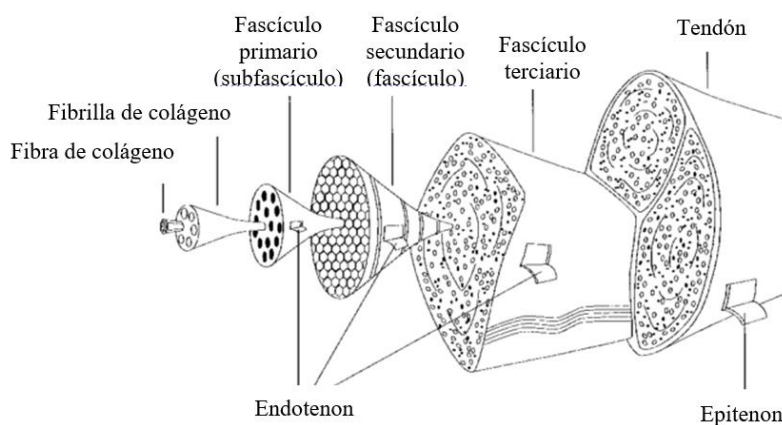
Entre el tendón del subescapular y el supraespinoso queda una zona débil que no está envuelta por una estructura tendinosa ni ligamentosa por lo que recibe el nombre de intervalo rotador (*figura 1.4*). Las únicas estructuras que se encuentran en este intervalo son, además de una cápsula fina, el ligamento coracohumeral y el ligamento glenohumeral superior. La importancia y la función del intervalo rotador son objeto de controversia pero tiene dos funciones admitidas: el mantenimiento de la presión intraarticular negativa que contribuye a la estabilidad glenohumeral y el control de la traslación posteroinferior de la cabeza humeral con el brazo en abducción.

## 1.2 Estructura tendinosa. Histología.

### 1.2.1 Matriz extracelular

El peso seco de un tendón, que representa un 30% del peso total, está constituido por 86% de colágeno que está embebido en la matriz extracelular con 2% de elastina, 1-5% de proteoglicanos y 0,2% de componentes inorgánicos como el calcio y el magnesio (8,9). El colágeno tipo I es el principal componente (85%); es el que más uniones cruzadas tiene y aporta una mayor resistencia a la tensión. El resto de las estructuras colágenas incluyen otros tipos de colágeno como el tipo II en las zona cartilaginosas, tipos III, IV y V en los vasos y el tipo X en el fibrocartílago mineralizado cerca de la inserción tendinosa (8).

Tras la secreción de péptidos de la célula se forman moléculas de tropocolágeno que forman uniones cruzadas para así crear moléculas insolubles de colágeno. Estas progresivamente se agregan en microfibrillas que a su vez forman las unidades visibles por microscopio electrónico, las fibrillas de colágeno (9). Las fibrillas de colágeno individuales están organizadas en fibras de triple hélice de colágeno que son la unidad básica del tendón (9). Varias fibras de colágeno forman un fascículo primario o subfascículo que está rodeado por un tejido conectivo, el endotenon, que es un tejido conectivo laxo (*figura 1.5*). Los grupos de subfascículos forman un fascículo secundario o fascículo que a su vez forman haces terciarios. Finalmente, el tendón está constituido por varios haces de fascículos terciarios englobados en el epitenon formando el tendón. Por el epitenon le llega al tendón el aporte vascular, linfático y la inervación (9). Entre el epitenon y la fascia está el paratenon, una capa fina de tejido conectivo graso laxo (10).



**Figura 1.5:** Estructura tendinosa esquemática.

El colágeno de los tendones está unido por proteoglicanos como el decorín y, en ciertas zonas, el agrecán que es capaz de unir las fibrillas de colágeno en sitios específicos. Los proteoglicanos están entrelazados con las fibrillas de colágeno a través de uniones de glicosaminoglicanos como el dermatán sulfato y el condroitín sulfato. El dermatán sulfato está más relacionado con la unión de las fibrillas mientras que el condroitín sulfato los mantiene separados para así evitar una deformación del tejido tendinoso.

### **1.2.2 Componente celular**

Los tenoblastos son las células responsables de la formación de los elementos extracelulares y tras la formación de las fibrillas de colágeno éstas se ven envueltas en las mismas convirtiéndose en fibroblastos y tenocitos alargados (9). La unidad celular predominante es el tenocito que supone un 90-95% de las células tendinosas y se comunican a través de uniones comunicantes cuya señalización les permite poder detectar y responder ante carga mecánica (11). El 5-10% restante incluye condrocitos en las zonas de presión e inserción, células sinoviales en la vaina tendinosa y células vasculares (endoteliales y de músculo liso) (9). En condiciones patológicas se pueden observar además otros tipos de células inflamatorias como macrófagos y miofibroblastos.

### **1.2.3 Vascularización e inervación**

La vascularización tendinosa generalmente es triple: intrínseca por vasos que llegan tanto de la unión miotendinosa como osteotendinosa y extrínseca a través del paratenon o la vaina sinovial (12). En el microscopio óptico los vasos se visualizan en el endotenon de forma paralela a las fibras de colágeno con anastomosis transversas ocasionales. En cuanto a los tendones del manguito rotador, estos tienen una buena vascularización en la unión miotendinosa pero el

número y el tamaño de los vasos disminuyen según van avanzando hasta la inserción humeral (11).

La inervación tendinosa se origina de ramas cutáneas, musculares y peritendinosas cuyas terminales nerviosas están localizadas en el epitenon y el paratenon (13). La zona interna del tendón no contiene fibras pero sí la unión miotendinosa donde llegan a través de los septos del endotenon.

#### **1.2.4 Otras estructuras**

Existen además estructuras extratendinosas, como la bursa subacromial, que juegan un papel importante para la reducción de la fricción (9). Están localizadas en las zonas anatómicas con prominencia ósea que podrían facilitar la compresión y desgaste del tendón.

### **1.3 Función y biomecánica del manguito rotador**

Biomecánicamente, al ser la articulación del cuerpo con mayor rango de movilidad, los mecanismos de función y estabilidad del hombro son complejos (1).

La función del manguito rotador es doble: centrar la cabeza humeral en la glenoides (sobre todo por parte del supraespinoso) y participar en la abducción y movimientos de rotación externa. Interviene en mantener la cabeza humeral dentro de la cavidad glenoidea durante la flexión anterior o antepulsión y la abducción de la articulación glenohumeral, deprimiendo la cabeza humeral contra la cavidad glenoidea (14). El grado de contribución a esta estabilidad varía según la rigidez del manguito rotador. Si la función de este se ve alterada, aunque sólo sea ligeramente, la posición normal de la cabeza humeral se perderá afectando negativamente a los tejidos

interpuestos, produciéndose una lesión inflamatoria sobre la bolsa sinovial y las fibras de colágeno de los tendones del manguito.

Tanto el deltoides como el manguito rotador intervienen en la abducción. Se estima que el deltoides contribuye con una fuerza abductora de entre un 35-65% (757 N), el subescapular alrededor de un 30% (283 N), el supraespinoso un 25% (205 N) y el infraespinoso aproximadamente un 10% (117 N). Estas fuerzas no solo se generan para realizar una abducción sino que además permiten la estabilización y neutralización de fuerzas antagonistas de la articulación glenohumeral.

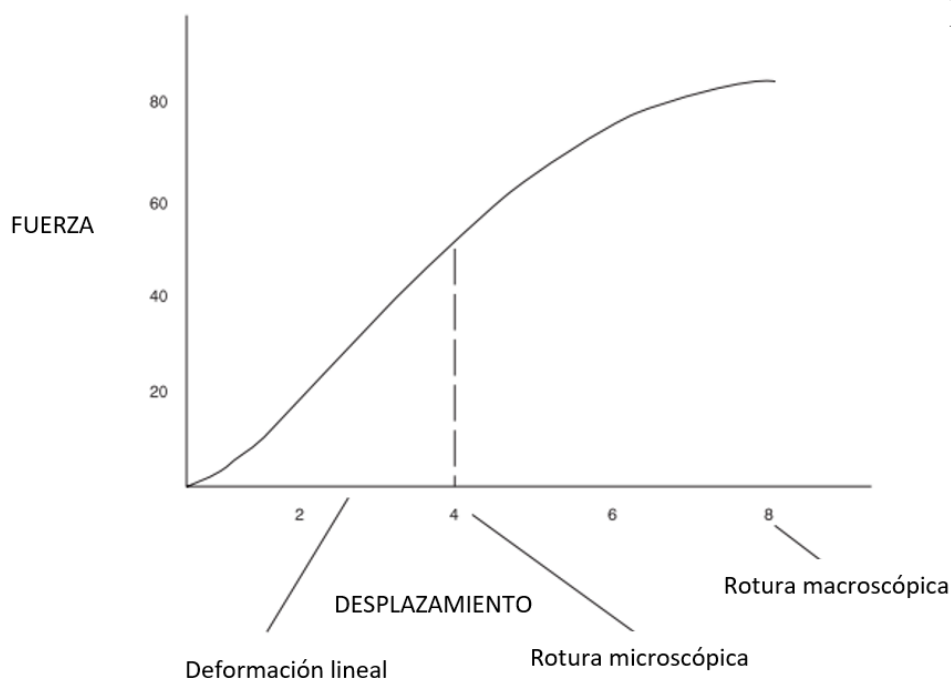
El músculo supraespinoso comprime, abduce y proporciona una ligera rotación externa a la articulación glenohumeral. Tiene su mayor fuerza a los 90° de abducción y su mayor brazo de palanca a los 30°. Por lo tanto, el supraespinoso es más efectivo en el inicio de la abducción aparte de ser, como hemos mencionado anteriormente, el músculo del manguito rotador que tiene mayor importancia en el mantenimiento de la cabeza del húmero junto a la cavidad. Durante los primeros 30° de abducción su función principal es la compresión de la cabeza humeral para contrarrestar su traslación superior debido a la fuerza del deltoides.

Aunque el músculo infraespinoso también mantiene la cabeza humeral en su posición, su principal acción es la rotación externa del húmero y constituye el manguito posterior conjuntamente con el redondo menor. Proporcionan una compresión glenohumeral, rotación externa y abducción por lo que resisten una traslación anterior y superior al aportar una fuerza posteroinferior sobre la cabeza humeral. La rotación externa que genera ayuda a alejar el troquíter del arco coracoacromial al realizar movimientos por encima de la cabeza, minimizando así el riesgo de un pinzamiento subacromial. La función abductora depende de su brazo de palanca que es pequeño a 0° de abducción pero aumenta a los 15° manteniéndose posteriormente estable.

Finalmente, el musculo subescapular contribuye a la estabilidad al igual que a la compresión glenohumeral y realiza abducción y rotación interna. Sus cabezas superior, media e inferior generan la mayor fuerza de rotación interna en 0° de abducción; al aumentar los grados de abducción el brazo de palanca de las cabezas inferior y media se mantienen relativamente constantes mientras que el de la cabeza superior disminuye paulatinamente. Es además un potente abductor con su mayor brazo de palanca en 0° de abducción que disminuye sucesivamente hasta los 60°.

El comportamiento mecánico de un tendón depende fundamentalmente del número y tipo de uniones intra- e intermoleculares de uno de sus componentes principales: el colágeno (13). En la curva de Fuerza-Desplazamiento se puede observar el comportamiento de un tendón (*figura 1.6*) (15). En reposo, las fibras mantienen una configuración ondulada. En la primera fase cóncava de la curva el tendón se distiende un 2% y el patrón ondulado se aplanan. Pasado este punto, el tendón se deforma de una manera lineal debido a un deslizamiento intramolecular de la triple hélice de colágeno por lo que estas obtienen una orientación más paralela. Si la distensión se mantiene por debajo del 4%, el tendón se comporta de una forma elástica y recupera la misma longitud que tenía inicialmente. Al pasar una distensión del 4% se empiezan a observar roturas microscópicas, y al sobrepasar el 8-10% estas roturas se convierten en macroscópicas debido a una presencia de daño intrafibrilar por deslizamiento entre moléculas adyacentes observándose un aplanamiento de la curva. Posteriormente, tendría lugar una rotura completa.





**Figura 1.6:** Curva Fuerza-Desplazamiento.

## 1.4 Etiopatogenia de las roturas del manguito

### 1.4.1 Fisiopatología

El proceso histológico que se manifiesta clínicamente como una patología tendinosa se puede ver como un fracaso de adaptación de la matriz ante el estrés debido a un desequilibrio entre la degeneración de la matriz y su síntesis (13). La patología del manguito rotador es un proceso continuo que se inicia con la compresión suave y que progresa hacia la rotura parcial del manguito, la rotura total, masiva y finaliza con el desarrollo de una artropatía (16,17).

La fuerza mecánica del tendón depende mayoritariamente de la estabilidad del colágeno, mientras que la elasticidad se ve afectada por la matriz extracelular cuya consistencia a su vez

depende de las proporciones relativas de ácido hialurónico y condroitín sulfato (9). Las propiedades biomecánicas de este gel hidrofílico se ven afectadas por la capacidad de las macromoléculas (glicosaminoglicanos y proteoglicanos) de unir agua y ésta aumenta con la fricción y las fuerzas compresivas. En cuanto a las fibras elásticas, parece que contribuyen a la recuperación del patrón ondulado tras la distensión tendinosa. Las propiedades y la función tendinosa se ven deterioradas con la edad: la estructura del colágeno (al perderse el colágeno y sus uniones cruzadas aumenta la rigidez del tendón) y disminuye tanto la concentración de agua como la vascularización (8,13,18).

### **1.4.2 Etiopatogenia**

La etiología de la patología del manguito rotador se puede dividir en causas extrínsecas e intrínsecas (1,16).

#### **1.4.2.1 Intrínseca**

La etiopatogenia intrínseca de la tendinopatía se debe a una debilidad del supraespinoso, hipovascularización y posterior degeneración del mismo (1,19). La fatiga muscular altera el efecto de compresión de la cabeza humeral contra la glenoides y al realizar movimientos, sobre todo por encima de la cabeza, la cabeza humeral asciende produciendo una compresión tendinosa. Dicha compresión ocasiona una mayor tendinopatía y, esta a su vez, una mayor debilidad muscular. El sobreuso de la movilización del brazo por encima de la cabeza produciría además microtraumatismos repetidos que con el tiempo resultan en desgarros y una reacción inflamatoria de la bursa y el manguito rotador. Esta reacción inflamatoria ocasiona una hiperplasia fibrosa con depósitos de calcio resultando en un tendón friable con mayor riesgo de

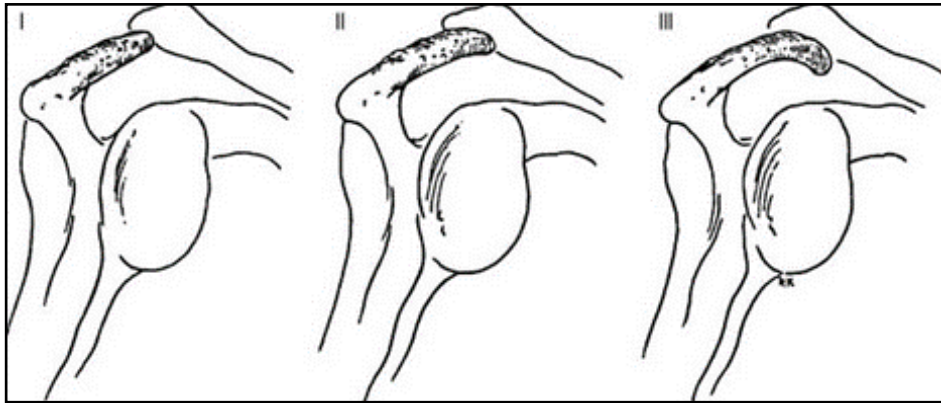
rotura. La hipovascularización sugiere que la zona crítica del tendón supraespinoso, situada a 5-10 mm de la inserción en el húmero, sería el área mecánicamente más débil y el sitio de origen de la mayoría de las lesiones del manguito rotador. Además, se ha demostrado que la circulación dentro del tendón supraespinoso y de la bursa disminuye significativamente a partir de los 40 años (20). Por lo tanto, todas estas causas contribuirían al desarrollo de una rotura completa.

#### **1.4.2.2 Extrínseca**

La etiopatogenia extrínseca está en relación con la compresión del manguito rotador por el arco coracoacromial disminuyendo así el espacio en el que se aloja el manguito (1,21). Entre estas se encuentran varias causas que alteran la estructura de los bordes subacromiales.

#### Arcada acromiotoracoidea

Dentro de las anomalías morfológicas del acromion están tanto los distintos tipos de acromion como las alteraciones en su proceso de osificación (os acromiale). Según la clasificación de Bigliani el acromion tipo I es plano, el tipo II curvo y el tipo III ganchudo (*figura 1.7*) (21). Balke y cols. realizaron un estudio donde observaron que en pacientes controles un 18% era tipo I, 80% tipo II y 2% tipo III mientras que en pacientes con una rotura del manguito estos porcentajes eran de 34%, 52% y 20%. Por lo tanto, el tipo III se relaciona más frecuentemente con un síndrome subacromial.



*Figura 1.7: Tipo de acromion según la clasificación de Bigliani.*

El os acromiale, en cambio, es una alteración de la fusión de los núcleos de osificación acromiales donde la fusión ósea está sustituida por una unión fibrosa engrosada (22). Generalmente ocasionan un síndrome subacromial dinámico. La fusión fibrosa hace que durante el movimiento de abducción del brazo la contracción del deltoides ocasione un desplazamiento inferior del os ocasionando en ese momento una disminución del espacio subacromial.

La patología degenerativa de las estructuras, como los osteofitos inferiores en una artrosis acromioclavicular, puede condicionar así mismo una disminución del espacio subacromial. Igualmente, la fibrosis con engrosamiento del ligamento acromiotoracoideo disminuye el espacio subacromial.

Las alteraciones de la coracoides son poco frecuentes, pero una apófisis coracoidea prominente o excesivamente lateral podría producir un choque con el húmero proximal con la antepulsión (120-130°) y rotación interna (1).

### Alteraciones de la extremidad proximal del húmero

Un troquíter prominente debido a una fractura previa o deformidades patológicas de la extremidad proximal del húmero podrían producir una compresión extrínseca del manguito rotador.

### Secundarias

La inestabilidad glenohumeral o escapulotorácica resultan en una alteración de la estabilidad de la articulación glenohumeral por lo que podrían dar lugar a una tendinopatía del manguito rotador (1).

#### **1.4.3 Estadíos evolutivos de Neer**

Se puede dividir la tendinopatía en tres estadíos evolutivos (*tabla 1.1*) (1). El estadío I generalmente es un estado reversible caracterizado por edema y hemorragia tanto en la bursa como en el manguito rotador. En el estadío II, la bursa está fibrosada y el tendón presenta una inflamación crónica. Cuando esto progresa a una rotura tendinosa, bien sea parcial o completa, nos encontraríamos en el estadío III de Neer.

Estadío	Anatomía patológica	Edad (años)	Curso clínico	Tratamiento
I	Edema y hemorragia	<25	Reversible.	Conservador.
II	Fibrosis y tendinitis	25-40	Crónico. Dolor recurrente con la actividad.	Conservador. Posiblemente acromioplastia.
III	Rotura tendinosa: - parcial - completa	>40	Incapacidad.	Reparación de la rotura y acromioplastia.

**Tabla 1.1:** *Estadíos evolutivos de Neer.*

#### 1.4.3.1 Artropatía

Un gran desgarró del manguito rotador se combina con la migración superior de la cabeza del húmero (por pérdida del efecto de compresión del manguito rotador) y consecutivamente, se produce una artrosis de la articulación glenohumeral (16). La patogenia es desconocida pero Neer ha descrito posibles vías mecánicas y nutricionales. En cuanto a los factores nutricionales considera la pérdida de un espacio estanco y la reducción de la presión del líquido articular requerida para la perfusión de nutrientes del cartílago. Esto conllevaría una atrofia del cartílago y una osteoporosis por desuso del hueso subcondral de la cabeza humeral. Los factores mecánicos descritos son la migración anterosuperior y la inestabilidad posterior de la cabeza humeral.

## 1.5 Biología de la reparación

Tras la lesión tendinosa aguda se desencadena una respuesta inflamatoria, que pasa por varias fases celulares que se solapan (11,13). La reparación tendinosa ocurre de forma intrínseca por proliferación de los fibroblastos del epitenon y el endotenon; y de forma extrínseca por invasión de las células de la vaina sinovial.

### 1.5.1 Fases de la respuesta reparadora

**La fase inflamatoria** tiene lugar durante la primera semana (11). Los eritrocitos del hematoma y las células inflamatorias llegan al lugar de la lesión; durante las primeras 24 horas los macrófagos son las células predominantes y fagocitan todo el tejido necrótico (13,15). Se liberan factores vasoactivos y quimiotácticos para aumentar la permeabilidad vascular, iniciar la angiogénesis, la estimulación de la proliferación fibroblástica y el reclutamiento de más células inflamatorias. Comienza la síntesis de colágeno tipo III y las plaquetas depositan fibrina, fibronectina y factores de crecimiento (IGF-1, PDGF, TGF- $\beta$ ).

**La fase proliferativa** se instaura a partir de las primeras 48 horas y dura aproximadamente 8 semanas; la proliferación fibroblástica más temprana comienza en los bordes de la lesión y de forma muy localizada (11). Tiene lugar el pico de máxima síntesis de colágeno tipo III, que durará varias semanas (13). La concentración de glicosaminoglicanos y de agua permanece elevada. La máxima proliferación y vascularización local se encuentra a los 28 días desde el inicio de la reparación.

**La fase de remodelado** comienza tras el pico de la fase proliferativa. Se caracteriza por la progresiva alineación y organización del colágeno en el sentido longitudinal del tendón (11,13). Se reabsorbe parte del colágeno tipo III y se reemplaza por el tipo I. Esta fase a su vez se puede

dividir en dos: una fase de consolidación y una de maduración (13). La primera tiene lugar durante la 6ª-10ª semana y el tejido de reparación cambia de celular a fibroso. El metabolismo del tenocito se mantiene elevado y se alinean según las fuerzas de estrés. Pasadas las 10 semanas se instaura la fase de maduración y el tejido fibroso es sustituido gradualmente por un tejido tendinoso cicatricial a lo largo de un año. Esto mejora las propiedades biomecánicas del tendón reparado, pero debido a que el tendón reparado está constituido mayoritariamente por tejido cicatricial fibrovascular con colágeno tipo III la calidad tendinosa será inferior a la de un tendón normal.

**En el manguito rotador** la reparación requiere una reinserción del tendón en el hueso (23). Normalmente, el tendón supraespinoso tiene 4 zonas de transición en su inserción humeral: tendón, fibrocartílago no-mineralizado, fibrocartílago mineralizado y hueso (4,11,24). El tendón está compuesto por fibras de colágeno paralelas conteniendo además algún tenocito alargado, en el fibrocartílago no-mineralizado se mantienen unas fibras de colágeno paralelas pero los tenocitos se ven sustituidos por condrocitos en matriz extracelular (25). Al mineralizarse la matriz extracelular se pasa a la zona de fibrocartílago mineralizado y las fibras de colágeno dejan su aspecto paralelo. La última zona está constituida por hueso laminar que se separa del fibrocartílago de forma lineal. La más afectada es la zona de transición de fibrocartílago donde el colágeno tipo I se ve sustituido por el colágeno tipo III (4,11,26). Los fibroblastos de origen tendinoso y de tejido circundante producen un colágeno desorganizado en la zona de inserción tanto del hueso como del tendón (23). Además, los osteoclastos migran hacia la zona de reparación produciendo así una reabsorción ósea que puede impedir la reparación osteotendinosa.

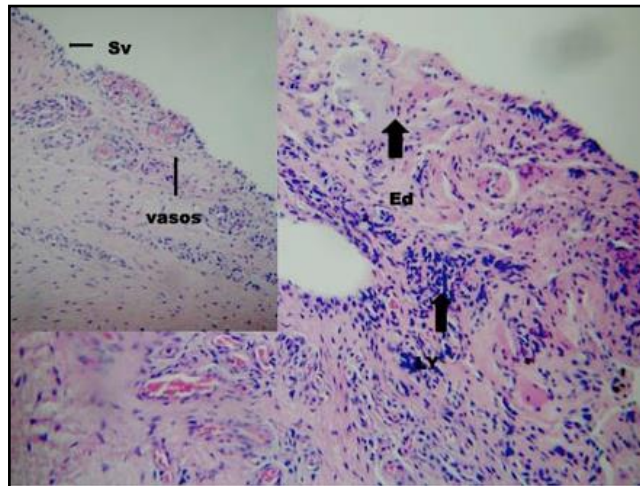


### 1.5.2 Lesiones agudas y crónicas

Las lesiones tendinosas pueden ser agudas o crónicas y son debidas a factores intrínsecos o extrínsecos, de forma aislada o combinada (13,27).

En las lesiones agudas los factores extrínsecos predominan mientras que en los casos crónicos los factores intrínsecos (como ejes biomecánicos) interaccionan con los extrínsecos. La carga excesiva de los tendones durante el ejercicio físico se ha considerado como el estímulo principal para la degeneración. La lesión tendinosa puede ser el resultado de un estrés acumulativo mediante microtraumatismos de repetición que no permiten un tiempo de reparación adecuado. La respuesta reparativa, a su vez, depende de si la lesión es aguda o crónica, encontrándose disminuida en esta última (17,28–30).

Las **lesiones agudas** son aquellas que llevan menos de 3 semanas de evolución y generalmente son debidas a un traumatismo. Son las más frecuentes en el paciente joven por lo que no suelen asociar alteraciones tendinosas que dificulten la cicatrización. A nivel histológico se observa inicialmente una respuesta inflamatoria con migración de las células hacia la rotura (*figura 1.8*) (20). En las siguientes 48 horas comienza la síntesis de proteínas y los fibroblastos activados producen colágeno tipo III. Las próximas 6-8 semanas este colágeno se sustituirá parcialmente por el colágeno tipo I sin llegar a recuperar las mismas características del tendón sano pero la zona de transición osteotendinosa no alcanza el nivel de desorganización colágena que presentan las lesiones crónicas.



**Figura 1.8:** Tinción hematoxilina eosina, aumentación 20X. Patrón de lesión aguda. Infiltrado linfocitario (LY), edema (Ed), vasocongestión (Vasos) y un sinoviotelio conservado.

Las lesiones se llaman **crónicas** cuando han transcurrido más de 3 semanas desde la aparición de la clínica y este tipo de lesiones generalmente afectan a un tendón degenerado sieno, por lo tanto, más frecuentes en pacientes de una edad más avanzada (17,28–30). La degeneración tendinosa se produce debido a la coexistencia de los intentos de reparación en sus diferentes etapas (20). Los diferentes hallazgos histológicos observados en las tendinopatías en la zona de rotura incluyen: adelgazamiento y desorganización en las fibras colágenas de las diferentes capas, metaplasia condroide, edema, proliferación vascular, infiltrado de linfocitos y mastocitos e hiperplasia del sinoviotelio. Las primeras 12 semanas se observan elevados niveles de síntesis tanto de colágeno tipo I como III. La producción del colágeno tipo III continúa por lo menos durante 18 meses y se obtiene una hiperplasia angio-fibroblástica además del reemplazo del colágeno III por el tipo I. El resultado final es una alteración de la composición de la matriz colágena que conlleva una menor resistencia a las fuerzas tensiles.

## 1.6 Clasificación de las roturas del manguito rotador

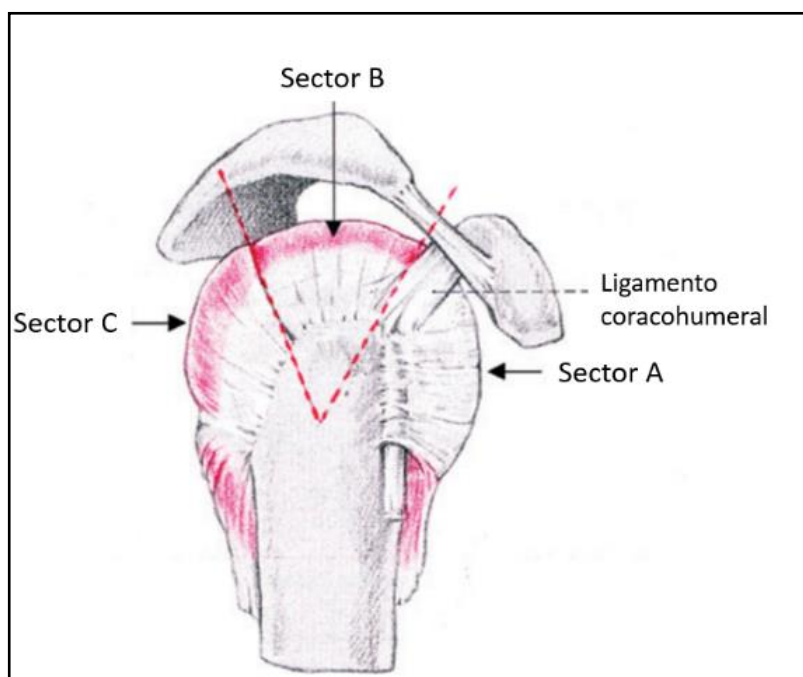
La fuerza tensil o la sobrecarga repetitiva puede conllevar a cambios en un tendón degenerado, pero para que estas se denominen roturas se tiene que observar una discontinuidad de las fibras tendinosas (17). Por lo tanto, estas lesiones del manguito rotador se corresponderían al estadio III de Neer.

### 1.6.1 Según la topografía

#### 1.6.1.1 Plano Sagital

Patte describió una clasificación sobre la topografía de las roturas del manguito rotador en el plano sagital que tiene correlaciones anatómicas y clínicas ya que las roturas anteriores son más dolorosas mientras que las roturas posteriores se asocian a mayor limitación funcional (31). El plano sagital se divide en 6 segmentos desde el subescapular hasta el infraespinoso. Las roturas aisladas del subescapular (*Segmento 1*) rara vez se observan en roturas degenerativas y suelen estar asociadas a avulsiones traumáticas. Las roturas aisladas del ligamento coracoacromial (*Segmento 2*) también suelen ser de origen traumático y no contribuyen a la patología del manguito rotador. Las roturas del *segmento 3* afectan al tendón supraespinoso pudiendo estar afectados los segmentos descritos previamente de una forma simultánea. Las roturas del *segmento 4* (tendón del supraespinoso y rotura de la mitad superior del infraespinoso) y del *segmento 5* (tendón supraespinoso y todo el infraespinoso) son importantes debido a que su reparación es técnicamente compleja. A su vez, las roturas totales del manguito rotador (*segmento 6*) afectan al subescapular, supraespinoso e infraespinoso y suelen asociar a una artrosis glenohumeral.

Habermeyer a su vez describió la topografía en el plano sagital en 3 sectores (*tabla 1.2 y figura 1.9*) (32):



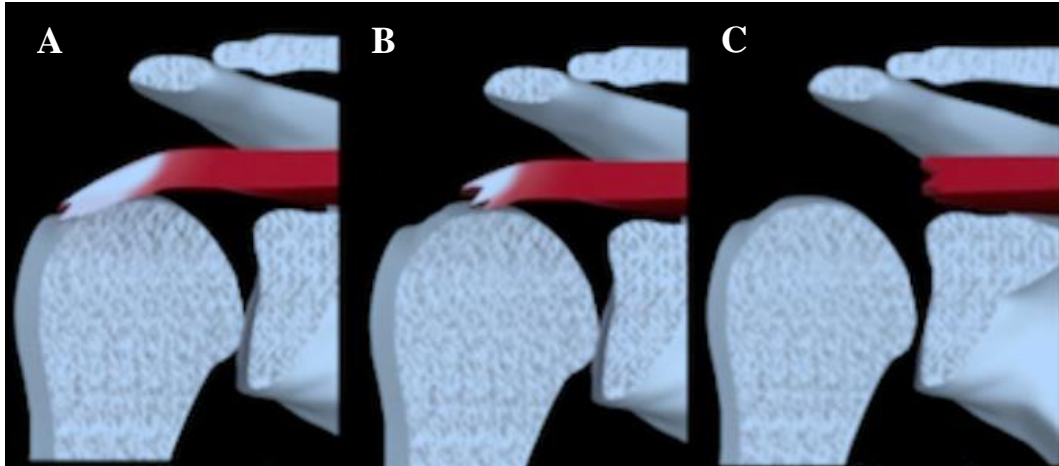
**Figura 1.9:** Imagen descriptiva sobre los diferentes sectores de la clasificación de Habermeyer.

Sector	Localización	Estructura anatómica afectada afectados
A	Anterior	Tendón subescapular, intervalo rotador y porción larga del bíceps.
B	Superior	Tendón supraespinoso.
C	Posterior	Tendón infraespinoso y redondo menor.

**Tabla 1.2:** Clasificación de Habermeyer de las roturas del manguito rotador.

### 1.6.1.2 Plano Frontal

Patte describió otra clasificación según la situación del tendón en el plano frontal (*figura 1.10*) (31).



**Figura 1.10:** Retracción en el plano frontal según la clasificación de Patte. A) estadio 1: retracción mínima junto a la inserción ósea, B) estadio 2: retracción hasta la cabeza humeral y C) estadio 3: retracción hasta el nivel de la glenoides.

## 1.6.2 Según el espesor

### 1.6.2.1 Roturas parciales

El grado de rotura parcial del manguito rotador se define por la profundidad del mismo y no por el tamaño del área afectada. Existen 3 subtipos de rotura parcial del tendón supraespinoso:

Bursal: rotura limitada a la superficie bursal del tendón.

Intersticial: una rotura intratendinosa.

Articular: la rotura se localiza en la cara articular del tendón, es la más frecuente.

Artroscópicamente se puede estimar la profundidad de la rotura parcial. Ellman describió una clasificación que combina el área afectada (superficie articular, bursal o intersticial) con la profundidad de la rotura (33). Un tendón normal mide aproximadamente 10-12 mm de grosor y se diferencia si la profundidad de la rotura es <3mm, 3-6 mm (menos de la mitad del tendón) o >6 mm.

Macroscópicamente se puede observar, mediante ecografía o artroscopia, una lesión inicial en forma de "pinchazo de rueda". Esta lesión parcial generalmente se localiza 7 mm posterior a la polea bicipital cerca de la inserción de la porción anterior de supraespinoso. Gradualmente esta lesión se amplía hacia la inserción en el troquíter a la vez que el hueso se ve modificado obteniendo un aspecto nodular y escleroso. Con el tiempo la lesión sigue progresando hasta llegar al lado de la bursa convirtiéndose en una *lesión completa*.

#### **1.6.2.2 Rotura completa**

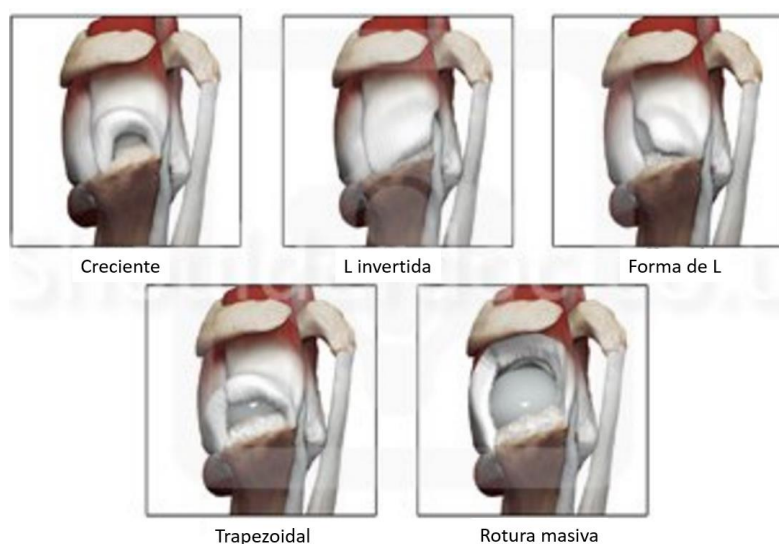
La progresión de una lesión parcial hacia una rotura completa puede tardar varios años; a lo largo de este tiempo el supraespinoso se debilita y pierde su función como centrador de la cabeza humeral por lo que esta puede subluxarse superiormente (16,17).

En función del **grado de retracción tendinosa** las roturas completas pueden dividirse en pequeña (<1cm), moderada 1-3 cm, grande 3-5 cm o masiva >5 cm (*tabla 1.3*).

Cuando la rotura es *grande* alcanza unos 3-5 cm y abarca el polo proximal de la cabeza humeral permitiendo la subluxación proximal de la misma y produciendo un desplazamiento de la porción anterior del supraespinoso y el infraespinoso hacia anterior y posterior respectivamente.

Finalmente se produce la *rotura masiva* del supraespinoso al observarse la rotura de la porción anterior del supraespinoso además del infraespinoso. La exposición de la porción larga del bíceps produce inflamación de la misma conllevando a su degeneración o rotura. Tras el fracaso de la polea bicipital la porción superior del subescapular se puede lesionar y la cabeza humeral se subluxa anteriormente.

En función de la morfología de la lesión (Clasificación de Gartsman y Ellman) las roturas completas se pueden dividir según la figura 1.11 (34).



**Figura 1.11:** Clasificación de Gartsman y Ellman.

Las roturas crecientes afectan al tendón supraespinoso y la zona lesionada está retraída medialmente dando lugar a esta forma (*tabla 1.3*) (34). Cuando el vértice de la rotura se encuentra adyacente al reborde glenoideo estaríamos ante una rotura en “U” o “V”. El defecto en “L” es una rotura triangular donde la rotura del supraespinoso se extiende entre los tendones

del supra- e infraespinoso, si es un defecto en “L invertido” la rotura del supraespinoso se extendería hacia el intervalo rotador. La rotura del tendón supraespinoso e infraespinoso produciría una rotura “trapezoidal” y cuando están implicados más de 2 tendones se denomina “masiva”.

Tamaño	Forma	Atrofia muscular
<1 cm: pequeña	Creciente	0: no deposición grasa
1-3 cm: mediana	en “L”	1: cierta infiltración grasa
3-5 cm: grande	“L” invertida	2: músculo > grasa
>5 cm: masiva	Trapezoidal	3: músculo = grasa
	Rotura masiva	4: músculo < grasa

**Tabla 1.3:** Distintas clasificaciones de roturas completas.

En las roturas del manguito rotador se puede observar una atrofia y/o degeneración grasa del vientre muscular. La clasificación de Goutallier clasifica el vientre muscular en cinco estadios en función de la degeneración grasa existente (35). El *estadio 0* se corresponde a un músculo normal sin infiltración grasa, en el *estadio 1* existe cierta infiltración grasa mientras que esta es abundante en el *estadio 2*. En el *estadio 3* la proporción grasa es igual a la muscular y en el *estadio 4* existe mayor infiltración grasa que muscular. Se ha descrito correlación entre el resultado clínico y las rerroturas con la infiltración grasa según la clasificación de Goutalier (36–39).



## **1.7 Diagnóstico por imagen**

### **1.7.1 Radiografía convencional**

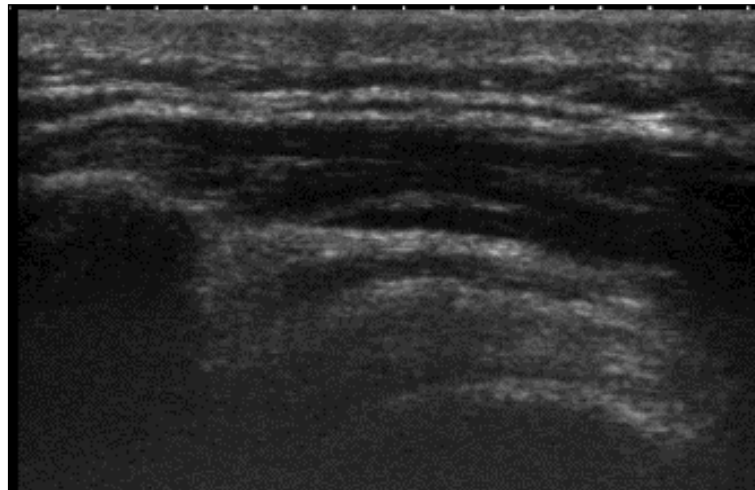
La radiología simple sigue siendo el procedimiento de imagen más empleado para el estudio inicial para diagnosticar patologías asociadas a la tendinopatía del manguito rotador como artrosis glenohumeral o acromioclavicular y descartar fracturas, variantes anatómicas, lesiones tumorales o tendinitis calcificante como etiologías causantes (17,40).

Las calcificaciones de la tendinitis calcificante generalmente se depositan en la zona proximal a la inserción del manguito rotador y se podrían diagnosticar mediante esta técnica. En la proyección anteroposterior del hombro se puede observar un ascenso de la cabeza humeral debido a un espacio subacromial de  $<7$  mm en las roturas del manguito rotador. La proyección axilar o lateral de escápula nos permiten descartar patologías asociadas de inestabilidad glenohumeral además de diagnosticar un posible os acromiale. Para poder observar la congruencia de las estructuras del arco coracoacromial como osteofitos, calcificación del ligamento o un acromion tipo III habría que solicitar una proyección del desfiladero.

### **1.7.2 Ecografía**

La ecografía es un estudio de imagen muy accesible, libre de irradiación y además relativamente más económico comparado con la resonancia magnética (8). Sus limitaciones son que es una

técnica observador dependiente y que la penetración de la profundidad se ve limitada en frecuencias altas (10).



**Figura 1.12:** *Ecografía longitudinal de un tendón supraespinoso íntegro observándose fibras paralelas y ecogénicas representando los fascículos del tendón (imagen cedida por el Servicio de Radiodiagnóstico del HCSC).*

El diagnóstico de la lesión del manguito rotador es una aplicación común de la ecografía (*figuras 1.12 y 1.13*). Nos permite diagnosticar una tendinopatía, roturas parciales o completas e inflamación articular o bursal además de descartar posibles lesiones óseas y cartilaginosas (17). En roturas masivas el tendón puede estar completamente ausente, observándose la cabeza humeral inmediatamente adyacente al deltoides (10).



**Figura 1.13:** *Ecografía longitudinal donde las flechas blancas señalan una disrupción de las fibras tendinosas con líquido anecoico en la rotura representando por lo tanto una rotura del mismo (imagen cedida por el Servicio de Radiodiagnóstico del HCSC).*

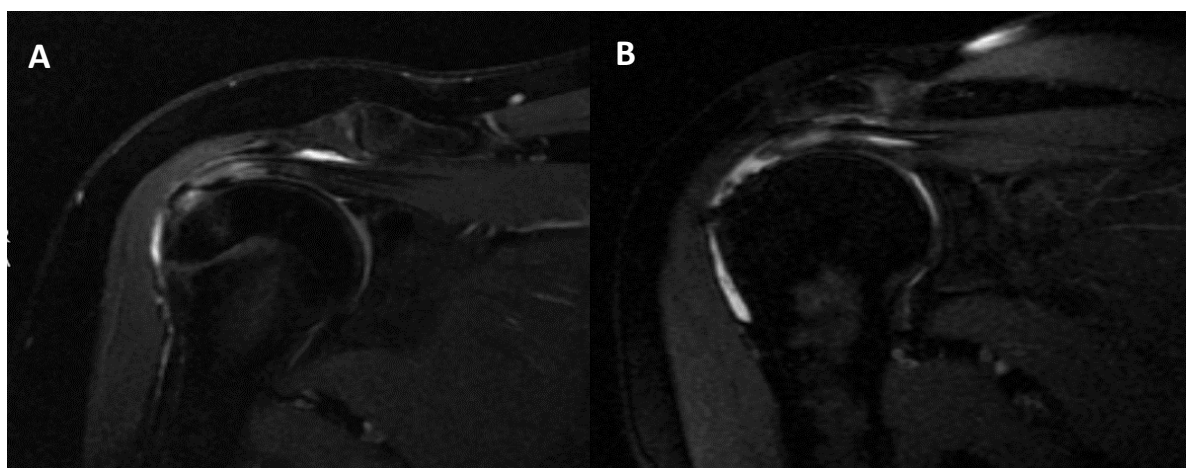
Tiene la ventaja de ser una exploración dinámica donde podemos visualizar características del pinzamiento por compresión de la bursa subdeltoidea además del tendón del supraespinoso y el estudio con Doppler puede permitir un diagnóstico diferencial entre pequeñas roturas intrasustancia o una neovascularización debido a una tendinopatía. Aporta, además, el beneficio de una buena visualización de la calidad del tejido tendinoso y a nivel postoperatorio no presenta desvirtuación de la imagen por inflamación, tejido cicatricial o material quirúrgico (18). En la entesitis se puede observar una pérdida de la ecogenicidad de la arquitectura fibrilar normal con disolución de los bordes tendinosos y un engrosamiento fusiforme irregular (8). También es útil en el diagnóstico de las calcificaciones ya que estas se observan como una región hiperecogénica.

La sensibilidad de la rotura parcial o total del manguito es similar a la de la resonancia pero la experiencia del radiólogo influye en el diagnóstico adecuado y hay estudios que refieren una concordancia interobservador moderada en roturas parciales (41). La limitación de la ecografía comparada con la resonancia magnética es la necesidad de una ventana acústica y que la visualización de ciertos tendones se puede ver limitada por estructuras óseas más superficiales

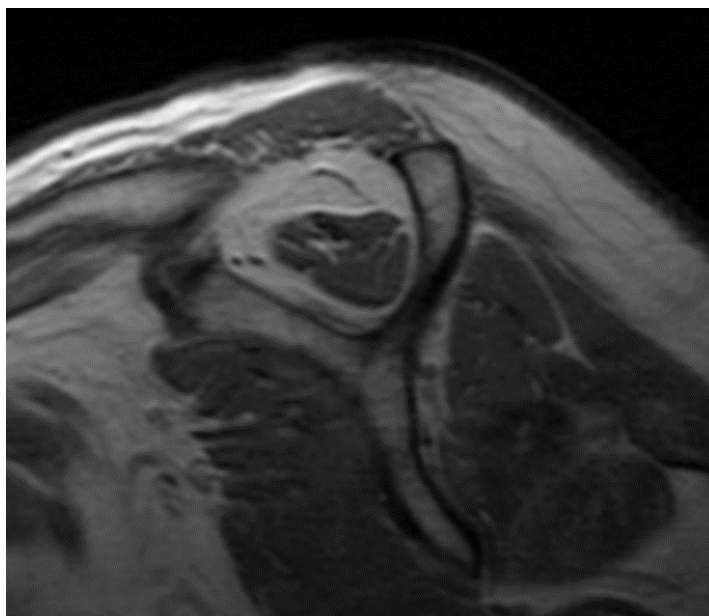
(10). Se ha descrito, tanto en el pre- como postoperatorio, una sensibilidad del 58-100% y una especificidad del 78-100% en roturas completas y una sensibilidad del 24-94% en roturas parciales (18,40).

### 1.7.3 Resonancia magnética

La RM tiene una sensibilidad de cerca del 100% para roturas completas (40). A diferencia del ultrasonido, nos proporciona además una información detallada sobre la localización y el tamaño de la rotura del manguito rotador, a la vez que se puede observar el grado de retracción y el estado del vientre muscular (*figura 1.14 y 1.15*) (10). Esta información cualitativa y cuantitativa nos ayuda tanto en la planificación quirúrgica como en la valoración del pronóstico (40). Para las roturas parciales en cambio, es menos sensitiva y entre sus inconvenientes destacan el coste y la elevada tasa de falsos positivos.



**Figura 1.14:** Corte coronal T2 de dos hombros observándose, en (A) alteración de señal del tendón (hiperintenso correspondiente a líquido por una rotura parcial) y en (B) una rotura del tendón supraespinoso con retracción del mismo (imagen cedida por el Servicio de Radiodiagnóstico del HCSC).



***Figura 1.15:** Corte sagital del paciente de la figura 1.14 (B) en T1 mostrando una atrofia muscular del vientre del supraespinoso (imagen cedida por el Servicio de Radiodiagnóstico del HCSC).*

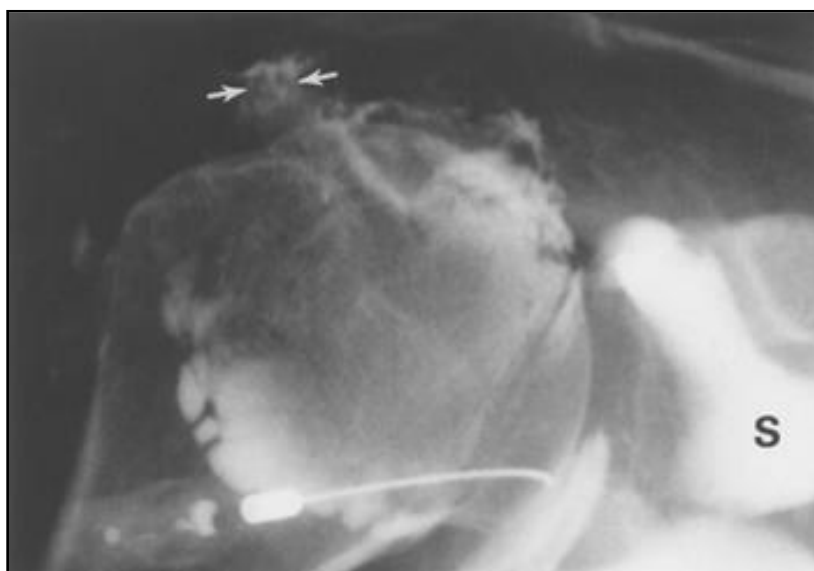
#### **1.7.4 Artrografía y artroresonancia magnética**

La artrografía y la artroresonancia magnética son pruebas invasivas que frecuentemente necesitan una buena coordinación para obtener imágenes tras un tiempo adecuado desde la administración del contraste (42).

La **artroresonancia magnética** nos permite valorar las estructuras intraarticulares debido a la distensión capsular a la vez que nos aporta mayor información sobre el estado de las partes blandas. Ha demostrado ser superior que el estudio con resonancia magnética convencional en el

diagnóstico de las roturas parciales articulares (hasta un 90% de sensibilidad) y para distinguir entre roturas parciales y completas (10,17). En cambio, las roturas parciales del lado bursal son difíciles de diagnosticar mediante este estudio de imagen.

La **artrografía con tomografía computerizada** permite valorar la relación del manguito rotador en relación con la cápsula articular y las estructuras óseas (40). En el momento actual se ha visto desplazada por la RMN y una de sus escasas indicaciones es el estudio del manguito rotador tras la artroplastia de hombro. Es una técnica relativamente poco cara pero menos precisa que la RM, sobre todo para las roturas parciales (*figura 1.16 y tabla 1.4*). Sigue siendo valiosa para el diagnóstico de los pacientes con contraindicación de la RMN como marcapasos o casos con contraindicaciones relativas como artroplastia reciente.



**Figura 1.16:** Artrografía de hombro donde se puede observar una rotura del manguito rotador. El contraste pasa a la rotura del tendón supraespinoso del espacio intraarticular (S= receso subescapular).

<b>Técnica</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Peculiaridades</b>
<b>Ecografía</b> - <b>Rotura parcial</b> - <b>Rotura completa</b>	95% 92%	100% 94,4%	Explorador dependiente.
<b>RM</b> - <b>Rotura parcial</b> - <b>Rotura completa</b>	100% 92,1%	95% 92,9%	Técnica de referencia. Difícil distinguir rotura parcial de tendinosis.
<b>Artrografía</b>	85%	85%	Escasas indicaciones actualmente.

*Tabla 1.4: Estudio radiológico de las roturas completas del manguito rotador.*

## 1.8 Epidemiología y repercusión clínica de las lesiones del manguito rotador

### 1.8.1 Epidemiología

La patología del manguito rotador es un continuo desde la compresión suave hasta la rotura parcial, completa, total, masiva y, finalmente, la artropatía (17). La etiología varía. En los pacientes jóvenes (menores de 40 años) estas suelen ser debidos a un antecedente traumático mientras que suelen ser atraumáticos en los pacientes mayores de 60 años. La incidencia de las roturas del manguito rotador es difícilmente valorable ya que la mayoría de las lesiones parciales solo se pueden identificar mediante artroscopia y además, la resonancia magnética puede

diagnosticar roturas parciales en pacientes asintomáticos (17). Estudios de cadáver han demostrado que las roturas parciales son más frecuentes que las totales, 50% comparado con 7-40% (17,43). Dentro de las roturas parciales las roturas articulares son 2-3 veces más frecuentes que las bursales y las intersticiales son las menos frecuentes. La incidencia de la progresión de las roturas parciales a totales es de 28-53% y tanto la prevalencia como la incidencia de las roturas aumenta con la edad. Entre la población de mayores de 80 años hasta un 51% tienen roturas asintomáticas del manguito rotador.

### **1.8.2 Clínica**

Existe poca bibliografía sobre las características de las roturas del manguito rotador asintomáticas en relación a su tamaño, localización etc..., ya que la influencia del control neuromuscular sobre una lesión anatómica, como una rotura del manguito rotador, es poco conocida (17). Existen pacientes con roturas completas que mantienen una buena función de la articulación glenohumeral sin dolor significativo. Los pacientes asintomáticos generalmente tienen roturas que están limitadas al tendón del supraespinoso y son muy poco frecuentes en pacientes menores de 60 años.

En los pacientes sintomáticos, el dolor se describe como un dolor sordo con inicio brusco que se extiende sobre la cara lateral del hombro y el brazo (40). Las actividades por encima de la altura del hombro empeoran la sintomatología y el dolor aumenta por las noches pudiendo llegar a despertar al paciente. La debilidad para la abducción y antepulsión generalmente se puede observar en casos más avanzados salvo en las roturas agudas relacionadas con un traumatismo donde el paciente puede referir una debilidad de inicio brusco.



## **Exploración física**

A la inspección se puede llegar a observar una atrofia muscular de la cintura escapular, sobre todo en casos avanzados donde se ven afectados con mayor frecuencia los vientres del supraespinoso e infraespinoso (40,44). El dolor subacromial o en el troquíter puede estar relacionado con la bursitis que frecuentemente coexiste con la lesión del manguito rotador.

Un balance articular activo menor al pasivo con dolor entre 60-120° de abducción es indicativo de una tendinopatía del manguito rotador mientras que una disminución de tanto el balance articular activo como pasivo es más sugerente de una artropatía.

Las maniobras de pinzamiento subacromial intentan reproducir el dolor al comprimir el manguito rotador entre la cabeza humeral y otras estructuras óseas como el acromion o el proceso coracoideo (40). Los más frecuentemente usados son el signo de Neer, signo de Hawkins y test de Neer (*figura 1.17 y tabla 1.5*) (40,45). Cabe destacar que los primeros 2 son relativamente inespecíficos y que pueden dar falsos positivos en otras patologías como la artrosis acromioclavicular o tendinopatía bicipital (46). Si Neer, Hawkins o Jobe son positivos se debería proceder a realizar un estudio de imagen para determinar una posible rotura, su localización y tamaño (17).



*Figura 1.17: Signo de Hawkins.*

<b>Tipo de test - músculo explorado</b>	<b>Posición</b>	<b>Signo positivo</b>
<b>Signo de Neer</b> - supraespinoso	Antepulsión.	0-70° no doloroso. 70-120° doloroso. >120° no doloroso.
<b>Test de Neer</b> - supraespinoso	Infiltración subacromial de anestésico local.	Restauración de balance articular completo no doloroso.
<b>Signo de Hawkins</b> - supraespinoso	Brazo en plano de la escápula (a 90°) y flexión del codo aplicándose rotación interna y externa.	Dolor con la rotación interna.
<b>Signo de Jobe</b> - supraespinoso	Brazo en plano de la escápula con codo extendido y rotación interna máxima.	Dolor al mantener la posición contra Resistencia.

*Tabla 1.5: Maniobras de pinzamiento subacromial.*

Los test funcionales se realizan para los siguientes 3 grupos musculares del hombro: el subescapular, infraespinoso con redondo menor y el supraespinoso. Es importante diferenciar la disminución de fuerza debido a pérdida de fuerza muscular o por inhibición voluntaria o involuntaria secundaria al dolor y la infiltración subacromial con anestésico local y/o corticoide puede ayudar a diferenciarlos. El subescapular se evalúa mediante maniobras de rotación interna contra resistencia, el supraespinoso mediante abducción en el plano de la escápula contra resistencia mientras que el infraespinoso y redondo menor presentarían una pérdida de fuerza de rotación externa. Existen varios signos y maniobras que nos ayudan a conocer las deficiencias de los tendones del manguito: “maniobra de despegue” para el subescapular, “signo del brazo caído” para el supraespinoso, “drop test de Hertel de rotación externa” para el infraespinoso y “signo del trompetista” para la disfunción del redondo menor (*figura 1.18 y tabla 1.6*) (40).



***Figura 1.18: Maniobra de despegue.***

<b>Tipo de test</b> - <b>músculo explorado</b>	<b>Posición</b>	<b>Signo positivo</b>
<b>Brazo caído</b> - <b>supraespinoso</b>	Brazo en plano de escápula a 90° de antepulsión y rotación externa máxima.	Imposibilidad para mantener el brazo antepulsado contra gravedad.
<b>Rotación externa</b> - <b>supraespinoso</b>	Brazo en plano de escápula (a 90°) con rotación externa máxima.	Imposibilidad de mantener rotación externa contra gravedad.
<b>Trompetista</b> - <b>redondo menor</b>	Mano en la boca con antebrazo y brazo paralelos al suelo y posteriormente rotación externa máxima.	Imposibilidad de mantener rotación externa contra gravedad.
<b>Laurent Lafosse</b> - <b>subescapular</b>	Mano en abdomen y llevar el codo todo lo anterior posible.	Imposibilidad para mantener codo anterior.
<b>Despegue</b> - <b>subescapular</b>	Mano en zona lumbar.	Imposibilidad para levantar mano de zona lumbar.

*Tabla 1.6: Signos de déficit para roturas del manguito rotador.*

## 1.9 Tratamiento de la patología del manguito rotador

El objetivo de todas las actitudes terapéuticas de un hombro doloroso es obtener un rango de movilidad libre de dolor y tanto las características del paciente (edad, nivel de actividad y patologías asociadas) como la etiología de la rotura influyen en la elección del tratamiento más adecuado (17,19,27,40). El manejo de las roturas parciales sintomáticas se debe dirigir hacia el diagnóstico primario como el pinzamiento subacromial o la inestabilidad, donde el tratamiento de la rotura parcial sólo constituye una pequeña parte del manejo global. En las roturas traumáticas en cambio, la lesión del manguito rotador es la causa de la disfunción dinámica y del proceso inflamatorio secundario por lo que la reparación del mismo es fundamental.

Si los signos y síntomas de la inflamación remiten y la deficiencia mecánica de la rotura del manguito se ve compensada por la función de los tendones del manguito rotador restantes o la musculatura del estrato externo, el paciente acaba siendo asintomático. En estos casos la indicación quirúrgica se debe realizar cuidadosamente, valorando una posible progresión de la rotura o la recidiva de la sintomatología.

### **1.9.1 Tratamiento conservador**

El tratamiento rehabilitador consiste en la conversión de un manguito rotador disfuncional en uno funcional por lo que hay que abarcar tratar tanto el dolor como la función (17,27,28,40). En la mayoría de los casos 3 meses de tratamiento conservador son suficientes para poder valorar la mejoría clínica que se obtendría sin tratamiento quirúrgico. Los pacientes que responden rápidamente al tratamiento rehabilitador tienen un mejor pronóstico, y parece que sobre todo el dolor y el balance articular mejoran mientras que se ha visto que la fuerza es difícilmente recuperable.

El tratamiento conservador de estas lesiones incluye reposo, aplicación de frío o calor local, tratamiento antiinflamatorio, modificación de las actividades y ejercicios para estiramiento capsular para posteriormente restaurar la fuerza muscular. Ciertos parámetros, como la fuerza inicial, la posibilidad de elevar el brazo por encima del hombro y una duración de la sintomatología <6-12 meses se consideran factores de buen pronóstico.

El **tratamiento mediante antiinflamatorios** no esteroideos (AINEs) disminuye la sintomatología del componente inflamatorio y es recomendable usarlos de forma pautada para obtener un mayor efecto (40). Para un manejo antiinflamatorio de mayor intensidad, sobre todo a

nivel analgésico, se podría realizar además una infiltración de corticoides en la bursa subacromial. La inyección de corticoides en la sustancia tendinosa, al igual que múltiples inyecciones en un corto periodo de tiempo, parece aumentar el riesgo de rotura tendinosa. Un metaanálisis demuestra mejoría significativa con ambos tratamientos, pero el efecto analgésico de las infiltraciones es mayor y más rápido (47). Dado que las infiltraciones son invasivas, generalmente se comienza con tratamiento antiinflamatorio vía oral y con fisioterapia, reservando así las infiltraciones para dolor persistente o severo.

El tratamiento rehabilitador se divide en 3 fases. En un primer lugar se modifican las actividades y se realiza control analgésico con tratamiento antiinflamatorio. Posteriormente se realizan ejercicios suaves de movilización para prevenir adherencias y una vez obtenido un balance articular completo se pasa a la última fase. El fortalecimiento inicialmente se realiza de la articulación escapulotorácica para posteriormente proceder al tratamiento de la articulación glenohumeral.

Varios estudios han intentado evaluar la utilidad de terapias como el ultrasonido, electroterapia y laser sin poder demostrar una mejoría significativa comparada con el placebo. La mayoría de las omalgias secundarias a lesiones del manguito rotador responden de forma satisfactoria al tratamiento conservador y el mayor riesgo del tratamiento conservador es la progresión de la rotura (17,40). Con el manejo concomitante de tratamiento antiinflamatorio y rehabilitador se han descrito resultados satisfactorios en 67% de los pacientes con pinzamiento subacromial. Otro estudio sobre el tratamiento conservador en pacientes con una rotura completa describe una mejoría en un 59% mientras que un 30% referían un empeoramiento de la sintomatología. Kukkonen y cols. realizaron un estudio randomizado comparando el tratamiento conservador con la acromioplastia y la reparación tendinosa de las roturas atraumáticas sintomáticas del tendón

supraespinoso (48). A los 2 años detectaron un menor tamaño sagital de la rotura en el grupo que había sido sometido a una sutura tendinosa pero clínicamente no se detectó ninguna diferencia entre los 3 grupos.

### **1.9.2 Tratamiento quirúrgico de las roturas del manguito rotador**

La dificultad del manejo de la patología del manguito rotador es tomar la decisión del momento oportuno para pasar del tratamiento conservador al quirúrgico. La indicación quirúrgica se realiza en función de la edad y actividad del paciente, el tipo de rotura (degenerativa versus traumática), la presencia de patologías asociadas y la respuesta al tratamiento conservador (17,27). En pacientes jóvenes se debe intentar restablecer una anatomía normal optimizando la función y la fuerza, mientras que en pacientes mayores con menor demanda se prima minimizar los riesgos quirúrgicos y obtener un rango de movilidad no doloroso.

La indicación absoluta para una reparación quirúrgica es una pérdida de fuerza postraumática de inicio brusco en un paciente joven y físicamente activo sin patología previa en el manguito rotador. Las indicaciones relativas serían dolor o debilidad refractaria a tratamiento conservador adecuado durante 3-6 meses. Hay varios estudios que apoyan distintas intervenciones pero desgraciadamente existen pocos estudios prospectivos randomizados que comparen tratamiento quirúrgico con tratamiento conservador. Las contraindicaciones del tratamiento quirúrgico incluyen una mala calidad tendinosa, retracción musculotendinosa y atrofia muscular (34).

#### Rotura parcial

Al valorar la rotura parcial hay que considerar el tamaño y la profundidad de la rotura, el nivel de actividad del paciente, la estructura ósea y la causa de la rotura (34). El tratamiento de elección de las roturas parciales es controvertido y las opciones terapéuticas consisten en desbridamiento de la rotura, desbridamiento y descompresión subacromial o reparación

artroscópica de la rotura combinado o no con descompresión. Generalmente se recomienda la reparación de las roturas de >50% del espesor y el desbridamiento para las roturas <50%.

### Rotura completa

El tratamiento quirúrgico de las roturas completas se valora, al igual que en las roturas parciales y el pinzamiento, ante el fracaso del tratamiento conservador. La única excepción es la rotura aguda del manguito rotador después de un traumatismo, ya que los resultados de la cirugía en estos casos se ve favorecida por la reparación precoz y menor grado de retracción (17).

Los principios de la cirugía son los siguientes: evaluar la rotura, liberar las contracturas capsulares, restaurar la respuesta reparadora, reinsertar el tendón en la huella anatómica, proteger la reparación y adquirir una movilidad controlada sin alteraciones. El tipo de tratamiento de las roturas completas depende de la extensión de la rotura, el patrón de rotura y el aspecto del vientre muscular en la RM. Tradicionalmente estas roturas se reparaban mediante cirugía abierta, pero hoy en día la mayoría se pueden realizar artroscópicamente.

A pesar de los avances técnicos la tasa de rerroturas tras la reparación tendinosa se encuentra entre un 15-50%, sin embargo, el 77-98% de los pacientes están satisfechos con los resultados de la reparación del manguito rotador y se ha detectado un alivio sintomático excelente y una mejoría funcional en más de un 80% (17,18). Incluso aquellos pacientes que sufren una rerrotura están mejor que antes de la cirugía en cuanto a dolor, movilidad y fuerza lo que probablemente guarde relación con un menor tamaño de la misma.



### Rotura masiva

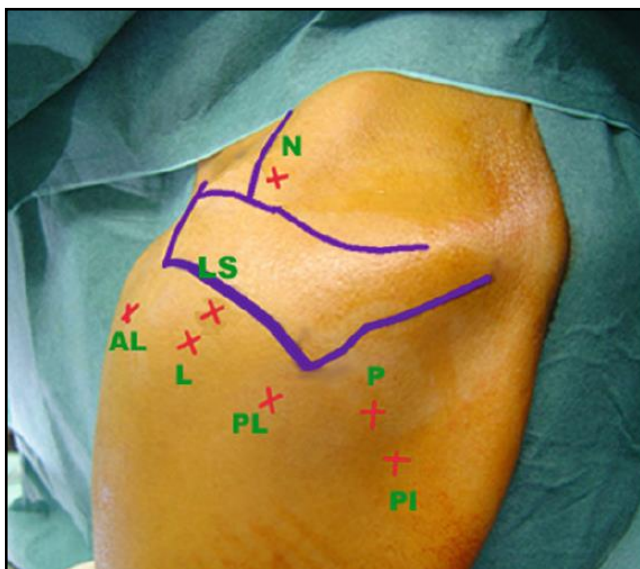
Este tipo de rotura implica una gran retracción tendinosa por lo que la reparación de estas lesiones es compleja (34). Frecuentemente se tiene que combinar una reparación convergente del tendón-tendón con una reparación de tendón-hueso, pero aun así no se suele obtener una reparación anatómica. Debido a que las roturas masivas implican una patología tanto del tendón como del vientre muscular generalmente se asocian a una degeneración grasa; en el momento que se observa una importante retracción tendinosa, degeneración grasa y una atrofia significativa del vientre muscular algunos autores consideran que las lesiones son irreparables (40). Pacientes con lesiones irreparables que han sido sometidos a un desbridamiento y una acromioplastia pueden perder la función contenedora del arco coracoacromial permitiendo un escape anterosuperior de la cabeza humeral por lo que algunos autores desaconsejan este tratamiento (34).

En los casos que se realiza una reparación se suele obtener un alivio sintomático en cuanto al dolor pero el balance articular y la fuerza no se suelen recuperar completamente. Además, se han descrito rerroturas en más de un 50% por lo que algunos autores recomiendan solo realizar un desbridamiento de la rotura masiva ya que esto conlleva un resultado satisfactorio en un 83% de los casos. Existen autores que, combinando las diferentes técnicas artroscópicas o abiertas y las técnicas reconstructivas mediante transferencias tendinosas, refieren un 80-90% de resultados satisfactorios (34).

#### **1.9.2.1 Tratamiento artroscópico**

Varios estudios han descrito resultados iguales o mejores con técnicas artroscópicas comparado con cirugía abierta tanto en los pinzamientos subacromiales como en roturas del manguito rotador (34). La ventaja de la cirugía artroscópica es la posibilidad de una exploración

intraarticular diagnóstica y que permite tanto la evaluación del lado bursal del manguito rotador como la del lado articular. Además produce menor daño de estructuras periarticulares, sobre todo en la inserción acromial del deltoides, el riesgo de infección es menor al igual que la estancia hospitalaria (pudiendo incluso ser cirugía ambulatoria) y el periodo de recuperación comparado con los procedimientos abiertos (49). Se puede realizar con el paciente en “silla de playa” o en decúbito lateral dependiendo de la preferencia del cirujano y se han descrito múltiples portales artroscópicos (*figura 1.19*).



**Figura 1.19:** Portales artroscópicos: anterior (A), posterior (P), posteroinferior (PI), poterolateral (PL), anterolateral (AL), lateral (L), laterosuperior (LS) y Neviaser (N).

#### Descompresión subacromial

La descompresión subacromial consiste en una bursectomía, sobre todo en su aspecto lateral ya que la zona medial no contribuye al pinzamiento subacromial, desinserción del ligamento coracoacromial del borde anteroinferior del acromion y una acromioplastia resecando el borde anteroinferior en la zona anterolateral del mismo (34).

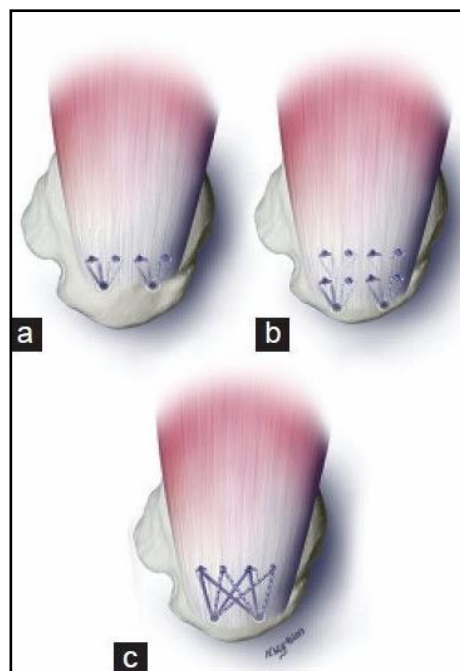
La técnica de elección es la artroscópica, pudiendo realizarse también mediante un abordaje mini-open. Se han descrito buenos resultados en un 88% de los casos de pinzamiento subacromial sometidos a una descompresión subacromial artroscópica (17). Un metaanálisis no detectó diferencias significativas respecto a resultados clínicos, tiempo quirúrgico ni tasa de complicaciones al comparar la acromioplastia artroscópica con la abierta pero la técnica artroscópica permite un retorno laboral más precoz (50).

### Reparación tendinosa

La evaluación de la rotura consiste en la exposición adecuada de la misma para así poder visualizar los bordes de la rotura, sobre todo el borde medial en el caso de que este esté retraído. En el caso de que la bursa dificulte la visión, la bursectomía puede ampliar el campo a la vez que facilita la posible sutura de la rotura. Es importante caracterizar el tipo y tamaño de la rotura al igual que posibles patologías de la porción larga del bíceps y del tendón subescapular. En caso de retracción se debe evaluar el grado de retracción, la movilidad del borde medial, la calidad del tendón y una posible degeneración del tejido adyacente a la rotura.

El tendón ha de ser reinsertado en su huella anatómica abarcando un área lo más amplia posible. La liberación de las contracturas nos permite disminuir la tensión del tendón al reinsertarlo. Para las roturas moderadas esto podría consistir en la liberación de la cápsula en la zona paralabral mientras que, en las roturas de mayor tamaño, podría llegar a ser necesario liberar el ligamento coracohumeral y el intervalo rotador. La mayoría de las roturas son crónicas por lo que la respuesta biológica de la reparación tendinosa es mínima. La decorticación de la huella anatómica en el troquíter permite que la sangre aporte fibroblastos al foco de la rotura tendinosa para así restaurar esta respuesta reparadora.

Existen distintas técnicas de sutura artroscópica (*figura 1.20*). Algunos autores prefieren posicionar todos los implantes en una hilera en el sulcus mientras otros prefieren una doble hilera (una medial y otra lateral) para realizar una reparación más anatómica (34,51,52). Últimamente se ha añadido una técnica, la sutura en puente, que implica unos anclajes mediales con suturas que se suturan al tendón medialmente tras lo que se llevan lateralmente por encima del cabo distal del tendón para posteriormente fijarlos a través de otro implante más lateral (36,51). De esta forma se conseguiría un aumento del área de contacto.



**Figura 1.20:** Sutura en simple hilera (a), doble hilera (b) y sutura en puente (c).

Posteriormente es importante proteger la reparación contra rerroturas durante la fase de cicatrización (6 semanas) y la fase de fortalecimiento (3 meses). Generalmente se recomienda un cabestrillo durante 6 semanas mientras que se permite al paciente que realice ejercicios pendulares y movilidad pasiva de la articulación glenohumeral. A las 6 semanas se recomienda comenzar con la movilización activa aumentando de forma progresiva el balance articular. Pasados los 3 meses se inicia el fortalecimiento mediante ejercicios activos contra resistencia, momento en el que la reparación osteotendinosa está en la fase final de la cicatrización.

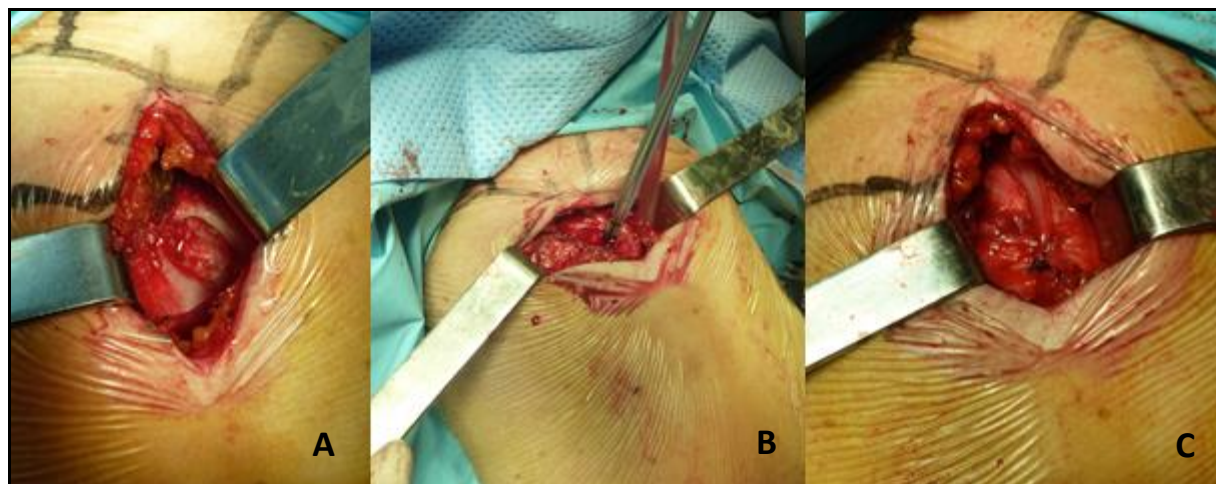
### **1.9.2.2 Tratamiento quirúrgico abierto**

La cirugía abierta generalmente se realiza con el paciente en “silla de playa” y tradicionalmente se utilizó para la reparación de roturas del manguito rotador no masivas (*figura 1.21*).



**Figura 1.21:** Paciente en silla de playa (imagen cedida por el Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del HCSC).

Debido al riesgo de dolor postoperatorio intenso, desinserción del deltoides y artrofibrosis se comenzó a utilizar una técnica mini-open que permitió obtener unos resultados similares a la cirugía abierta con menor morbilidad deltoidea (*figura 1.22*) (49).



**Figura 1.22:** A) Abordaje quirúrgico en un mini-open, B) anclaje de sutura y C) sutura de la rotura completa (imagen cedida por el Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del HCSC).

Las roturas masivas e irreparables pueden ser susceptibles de una cirugía abierta con transferencia de un tendón del manguito rotador íntegro como la porción superior del subescapular, redondo mayor, pectoral mayor o dorsal ancho o implantación de materiales sintéticos.

En pacientes mayores con una escasa función del manguito rotador la artroplastia invertida se podría considerar como una opción terapéutica. Esta nos permitiría un alivio sintomático y la función del supraespinoso se ve suplida por la del deltoides ya que el centro rotatorio de la articulación glenohumeral se traslada inferolateralmente.

## 1.10 Nuevos enfoques en la reparación del manguito

### 1.10.1 Mecánicos

#### 1.10.1.1 Anclajes

A lo largo de las últimas décadas los procedimientos quirúrgicos de la reparación del manguito rotador han evolucionado considerablemente; la industria quirúrgica con el auge de los procedimientos artroscópicos y ante una patología tan relevante y frecuente, tiene entre sus prioridades investigar al respecto con el fin de obtener anclajes con propiedades mecánicas cada vez mejores y que ocasionen un mínimo defecto en el hueso y/o se acaben integrando con el (53). Desde los primeros implantes empleados para suturas de manguito la evolución ha sido constante, han mejorado tanto en el material con el que están compuestos como en el tipo de sutura que llevan. Algunos de los materiales más empleados en la actualidad son los anclajes de titanio, los de ácido poliláctico autoreforzado (SR-PLLA), los de hidroxiapatita o  $\beta$ -tricálcio fosfato con ácido poliláctico (MicroTCP), los de poliéter éter cetona (PEEK) y los de polietileno de alto peso molecular (todo sutura) (*figura 1.23*).



**Figura 1.23:** Diferentes anclajes para suturas del manguito rotador.

Algunas de las ventajas e inconvenientes de estos implantes se resumen en la tabla 1.7.

Material	Ventajas	Inconvenientes
<p>Titanio</p> <p>- inserción roscado</p>	<p>Material inerte.</p> <p>Mayor resistencia.</p> <p>Mejor control postoperatorio: visible en radiografías.</p> <p>No necesario terrajar.</p>	<p>Permanencia del implante.</p> <p>Interferencias con RM postoperatorias.</p> <p>Lesión del cartílago articular en caso de migración.</p>
<p>PEEK</p> <p>- inserción impactado</p>	<p>Material inerte.</p> <p>Mayor resistencia que los bioabsorbibles.</p> <p>Mejor fricción con el hueso que los bioabsorbibles.</p>	<p>Implantación permanente.</p> <p>Baja osteointegración.</p>
<p>SR-PLLA o HA-PLLA</p> <p>- inserción roscado</p>	<p>Material degradable.</p> <p>No visible en radiografías.</p>	<p>Imprescindible realizar un agujero piloto.</p> <p>Ocasionalmente necesario terrajar.</p> <p>Posibles fallos durante su inserción.</p> <p>Posibles reacciones alérgicas.</p> <p>Los productos de degradación pueden ser ácidos.</p> <p>Posible interferencia con la regeneración ósea y del tejido blando.</p>
<p>MicroTCP</p> <p>- inserción impactado</p>	<p>Material absorbible y osteoconductor.</p> <p>Mayor resistencia que versiones anteriores.</p> <p>Mayor osteointegración que hidroxiapatita.</p> <p>No produce respuesta inflamatoria.</p>	<p>Menor resistencia a la fricción que PEEK y titanio.</p>
<p>Todo sutura</p> <p>- inserción impactado</p>	<p>Menor diámetro del material implantado.</p> <p>Superficie del implante en contacto totalmente con el hueso.</p> <p>Integración en hueso por su estructura filamentosa.</p>	<p>En ausencia de cortical la fijación se dificulta.</p> <p>Material no absorbible.</p>

**Tabla 1.7:** Ventajas e inconvenientes de los diferentes tipos de anclajes.



Los anclajes sólo sutura suponen la última novedad al respecto, son anclajes “sin anclaje” lo que hace que el defecto óseo creado al introducirlo sea mínimo y esto a su vez permita la implantación de un mayor número de los mismos. Galland y cols. hicieron un estudio biomecánico en cadáveres porcinos para valorar la fuerza necesaria para arrancar un anclaje “todo sutura” (diámetro 1,4 mm) comparado con un anclaje de sutura “estándar” (diámetro 5,5 mm) y no pudieron encontrar diferencias estadísticamente significativas (54). Refieren además que las posibles complicaciones de una migración de los anclajes “estándares” podría resultar en cuerpos libres intraarticulares o lesión del cartílago articular mientras que el fracaso de “todo sutura” tiene complicaciones más leves y equiparables con los de una sutura transósea.

Los anclajes también se pueden dividir en 2 grupos de diseño según la relación entre la sutura y el anclaje: los anclajes de sutura interna tienen suturas que están dentro del anclaje mientras que los de sutura externa tienen la sutura por fuera del anclaje (*figura 1.24*) (53). Los anclajes externos generalmente dependen de un mecanismo de bloqueo interferencial para bloquear la sutura mientras que los internos bloquean la sutura mediante un mecanismo interno del anclaje. Ono y cols. realizaron un estudio biomecánico de suturas del manguito rotador en cadáveres y observaron mayor desplazamiento de las suturas de anclajes externos que los internos además de un mayor fracaso de los anclajes externos por menor fuerza de cohesión.



**Figura 1.24:** Anclaje con sutura interna a la izquierda y sutura externa a la derecha.

#### **1.10.1.2 Suturas**

La elección del tipo de material de la sutura es crucial para la estabilidad de la reparación (55). El poliéster (tereftalato de polietileno, p.ej. Ethibond®) es un material muy rígido y con una elevada carga máxima por lo que se suele usar para suturas tendinosas. Actualmente se ha desarrollado una sutura de polietileno de alto peso molecular (p.ej. HiFi®), proporcionándole así una mayor resistencia a la reparación del manguito rotador que con una sutura de polietileno normal. Hurwit y cols. compararon suturas de poliéster, suturas de polietileno de alto peso molecular y poliéster de alto peso molecular combinado con un monofilamento absorbible de polidioxanona y observaron una mayor rigidez en las suturas de polietileno de alto peso molecular (56). Hakimi y cols. compararon la afinidad entre los fibroblastos derivados de un tendón supraespinoso humano y la sutura de poliéster, polidioxanona y vicryl observando una buena proliferación en los 2 primeros comparado con el vicryl, y a su vez, el poliéster presentó una mayor adhesión celular que la polidioxanona (57).

### **1.10.2 Biológicos**

Ninguna de las técnicas de reparación en el día de hoy consigue restaurar la arquitectura normal de la zona de transición, un hecho que puede explicar por qué no siempre se obtiene la cicatrización tras la reparación del manguito rotador. Por ello, actualmente existen varias líneas de investigación destinadas a favorecer la reparación biológica mediante ingeniería tisular. La ingeniería tisular puede ser definida como la ciencia que es capaz de reconstruir tejidos tanto estructural- como funcionalmente. Este proceso de reconstrucción puede ser llevado a cabo enteramente *in vitro*, o sólo parcialmente y completado *in vivo*, in situ. Este término designa también cualquier tipo de actuación en la que se empleen componentes que, por sí solos o en combinación con otros, sean capaces de intervenir en la formación de un tejido reparador. Los constituyentes claves de esta respuesta reparadora son las matrices, las células y moléculas como los factores de crecimiento o genes.

#### **1.10.2.1 Transportadores**

El valor de un transportador radica en la habilidad de promover una respuesta reparadora en un defecto de una manera completa y reproducible. Su función consiste en facilitar el soporte y mantenimiento de células y biomoléculas que forman la base de la respuesta reparadora (11,26,43,58). En el caso de su empleo en suturas además tienen la propiedad de reforzar mecánicamente la sutura.

La matriz ideal para la reparación de la unión osteotendinosa debe tener una serie de propiedades para mantener y descargar la zona del tejido de reparación hasta que haya cicatrizado. Debe poseer una buena fijación a los bordes del defecto, facilitar la adhesión de las células para prevenir la migración de las mismas fuera del implante, ser biodegradable, permaneciendo en el

lugar de la lesión el tiempo suficiente para que el tejido generado se remodele y reemplace la matriz, y ser biocompatible, sin efecto citotóxico y sin respuesta inflamatoria que deteriorarían la estructura. El término biocompatibilidad debe emplearse con precaución y siempre en relación a un compartimento tisular específico. Luego supone encontrar el material adecuado, con la estructura adecuada y las tres características principales fijación, soporte y degradación. La capacidad de regenerar el tejido no sólo va asociada a su composición química sino además a sus propiedades físicas.

Evidentemente ningún material cumple todos estos requerimientos, sin embargo, con la combinación de diferentes materiales y la realización de ciertas modificaciones químicas, podemos aproximarnos bastante al transportador ideal.

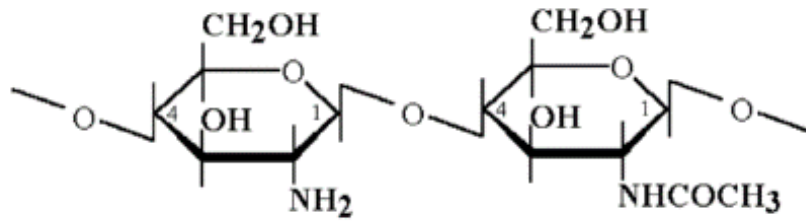
Las matrices pueden poseer una estructura bidimensional donde las células son sembradas sobre el transportador o tridimensional donde las células se siembran dentro del transportador. Diversos estudios han demostrado que las matrices porosas tridimensionales son superiores a sus homólogas bidimensionales en proporcionar un ambiente adecuado a las células (59).

Existen varios tipos de transportadores de tanto origen natural como sintético o combinaciones de ambos (60). Generalmente consisten en una proteína basada en la matriz extracelular y la mayoría están compuestos por colágeno tipo I. Los transportadores se procesan para minimizar la enfermedad injerto contra huésped, permitir su incorporación en el tendón e inducir factores de crecimiento para la respuesta reparadora.

## Biológicos

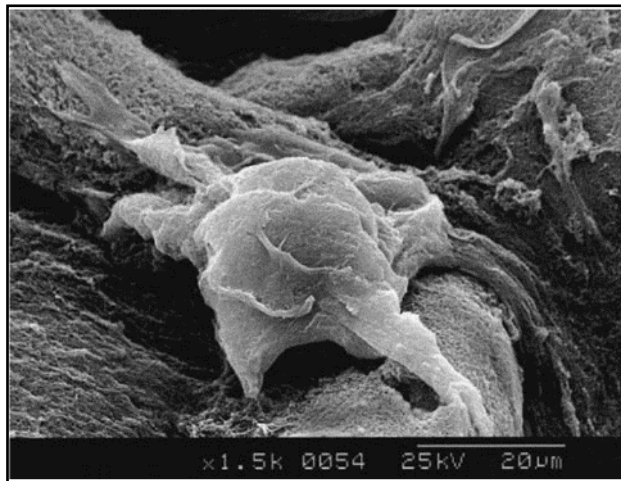
Se han descrito varios transportadores para la reparación tendinosa: submucosa de intestino delgado porcino, quitina y nanofibras. Estos transportadores biológicos se pueden subdividir, a su vez, en función del tipo de células (intestino delgado, dermis, pericardio y fascia lata) y su origen humano (autoinjerto o aloinjerto) o xenoinjertos (porcino, bovino o equino) (26). Tienen la ventaja de que proporcionan un ambiente químico y estructural dado que aportan una combinación de factores; es de composición natural, es una estructura tridimensional y aporta biomoléculas remodeladoras que tienen efecto sobre la biología de la cicatrización y la remodelación (60). Esto permite una mayor superficie para la adhesión, proliferación y migración celular y una inducción más precoz de la formación tisular (26). Sus desventajas incluyen peores propiedades mecánicas, una degradación incierta y variaciones en la biocompatibilidad dependiendo de su origen. Actualmente se han descrito xeno-mallas de submucosa intestinal porcina, pericardio equino o fascia que según algunos autores mejoran las características biomecánicas y disminuyen el dolor mientras otros refieren que producen una importante reacción inflamatoria o disminución de la fuerza (61–64).

La quitina es un polisacárido catiónico que forma parte de los polímeros estructurales del exoesqueleto de los artrópodos (arácnidos, crustáceos e insectos) y está ampliamente descrito como material de curas de heridas, sistemas de liberación de medicamentos o implantes (*figura 1.25*) (65).



**Figura 1.25:** Estructura molecular de la quitina.

El alginato es un polisacárido natural abundante que es parecido al ácido hialurónico debido a que contiene ácido D-glucorónico que aporta un apoyo estructural (65,66). Kong y cols. demostraron que las membranas de alginato y quitina promovían la proliferación de células mesenquimales tanto *in vitro* como *in vivo*, perfilándose como un transportador con gran potencial para la ingeniería tisular (figura 1.26) (67,68).



**Figura 1.26:** Imagen de microscopio electrónico observándose la adhesión de fibroblasto sobre transportador de alginato y quitina.

### Sintéticos

Consisten en polímeros de una gran variedad de materiales como poliéster, carbón, silicona, nylon, poliacrilamida y dacrón (26). Tienen un menor impacto biológico pero son mecánicamente más resistentes, más consistentes y no existe riesgo de transmisión de enfermedades. Aportan la ventaja de mantener las propiedades mecánicas a lo largo del tiempo y de poder estabilizar la reparación mecánicamente hasta la cicatrización propia del tejido (60). Una de las grandes desventajas es la biocompatibilidad y el riesgo de reacción de cuerpo extraño que puede conllevar una infección, disminución de la estabilidad, sinovitis, osteolisis y artrosis.

#### **1.10.2.2 Factores de crecimiento**

La tendencia actual en los procesos de ingeniería tisular es el empleo no sólo de una matriz sino también de moléculas que específicamente guíen el curso de la diferenciación celular en la dirección adecuada.

Los factores de crecimiento son un conjunto de sustancias, la mayoría de naturaleza proteica que junto con las hormonas y los neurotransmisores desempeñan una importante función en la comunicación intercelular. La función principal de los factores de crecimiento es la del control externo del ciclo celular. Estos factores, no sólo estimulan la proliferación celular mediante la regulación del ciclo celular iniciando la mitosis, sino que también tienen como función el mantener la supervivencia celular, estimular la migración celular, la diferenciación e incluso la apoptosis.

Los avances de los estudios sobre la reparación tisular han demostrado que existen varios factores de crecimiento que están implicados en diferentes fases de la reparación tisular: factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento insulínico (IGF), el factor de crecimiento transformante (TGF) y las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs). Estas últimas, son **factores de crecimiento** que pertenecen a la familia de los factores de crecimiento transformantes TGF- $\beta$  (excepto la BMP-1), una superfamilia de proteínas con la capacidad de inducir fuertemente la formación de hueso nuevo y/o cartílago. Las BMPs interactúan con receptores específicos que se encuentran en la superficie celular, conocidos como *bone morphogenetic protein receptors* (BMPRs).

Estos factores se expresan a lo largo del proceso de reparación y se ha descrito que la elevación de los mismos en el estadio final de la reparación osteotendinosa en ratas resulta en un aumento de la carga en la unión osteotendinosa además de favorecer varios de ellos (TGF- $\beta$ , BMP-12 y BMP-13) la reparación tendón-tendón estimulando la baja capacidad de proliferación que tienen los tenocitos (69–76). El factor de crecimiento de fibroblastos (Fibroblast Growth Factor o FGF) está implicado en la proliferación y secreción de colágeno de los tenocitos mientras que el factor de crecimiento derivado de plaquetas (Platelet Derived Growth Factor o PDGF) favorece la producción de colágeno, expresión de otros factores de crecimiento y la migración de células inflamatorias a la lesión. Se sugiere que una liberación continua en fases iniciales del factor de crecimiento transformante beta (Transforming Growth Factor beta o TGF- $\beta$ ) puede resultar en una mejoría estructural ya que juega un papel esencial en el desarrollo fetal y la modulación del tejido cicatricial. En cuanto a la remodelación de la matriz extracelular, se ha observado una mayor orientación de las fibras de colágeno tras aplicar las metaloproteinasas de la matriz extracelular (Matrix Metaloproteinases o MMP). El factor de crecimiento insulínico tipo I (Insulin-like Growth Factor type I o IGF-1) se ve aumentado en la fase inicial de la reparación



tendinosa y estimula la quimiotaxis y proliferación de fibroblastos y células inflamatorias en la lesión mientras que el factor de crecimiento endotelial vascular (Vascular Endothelial Growth Factor o VEGF) estimula la angiogénesis. Se ha descrito que la administración del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) aumenta la proliferación celular tanto en el tendón como en la cabeza humeral en ratas con roturas agudas del supraespinoso (77). En cambio, para favorecer la unión osteotendinosa sería más interesante usar sustancias que actúan tanto sobre tenocitos como osteoblastos además de favorecer una revascularización (70). Las BMP, además de estimular la formación ósea, se ha visto que se expresa en la fase aguda de la reparación tras una lesión del manguito rotador (23,25,26). El empleo de estas proteínas en procesos de regeneración tendinosa, ha sido evaluado en múltiples estudios, tanto *in vitro* como *in vivo* (11,70,74,78–81).

#### Plasma rico en plaquetas (PRP)

Es uno de los procedimientos con más auge en los últimos años en cualquier patología relacionada con la cirugía ortopédica y la traumatología más empleados (24). Las plaquetas son una fuente de factores de crecimiento que estimulan la proliferación celular y proporcionan una matriz temporal fomentando así la reparación del tejido. El plasma rico en plaquetas es un producto autólogo derivado de la sangre que contiene una mayor concentración de plaquetas y se usa para la aportación de factores de crecimiento a niveles suprafisiológicos como el TGF-  $\beta$ , PDGF, IGF, FGF y VEGF (82–84). Se ha propuesto que facilita la coagulación y la hemostasis, estimula la cicatrización de una lesión, restaura los niveles de ácido hialurónico intraarticular, equilibra la angiogénesis, promueve la síntesis de glicosaminoglicanos y que funciona como apoyo celular en cuanto a su migración y diferenciación (24). En estudios *in vitro* y en modelos de animal parece que la aportación de los factores de crecimiento liberados por las plaquetas estimula la proliferación y reparación celular de tenocitos y condrocitos humanos (11,83,85). En

los modelos experimentales se observó cómo los resultados histológicos y biomecánicos mejoraban tras la aplicación de PRP. En cambio, en ensayos clínicos no se ha podido observar una diferencia significativa en pacientes sometidos a suturas artroscópicas al comparar los resultados con un grupo control (86). Por lo tanto, a día de hoy, no existe evidencia científica de que su empleo mejore los resultados clínicos en roturas del manguito rotador.

#### **1.10.2.3 Terapia celular**

Para la terapia celular en la patología tendinosa se han descrito sobre todo las células madre mesenquimales (Mesenchymal stem cells o MSC) que tienen un potencial de diferenciación hacia múltiples tejidos como hueso, grasa, músculo y tendón. Se han descrito tres tipos de células madre: embriogénicas, derivadas de la placenta o de la sangre del cordón umbilical y células del adulto que proceden a su vez de diferentes tejidos como la médula ósea, el tejido adiposo y el músculo (24,81). La médula ósea ha demostrado ser una fuente de MSC y podrían ser de gran utilidad clínica ya que no necesitan expansión en medios de cultivo y se puede acceder a ellas intraoperatoriamente sin grandes dificultades. Omi y cols. realizaron un estudio *in vivo* en ratas y observaron una mejor reparación tendinosa con estas células comparado con solo sutura en roturas completas agudas (87). Hernigou y cols. realizaron un ensayo clínico en pacientes con roturas completas comparando un grupo de sólo sutura artroscópica con uno que además recibió MSC de médula ósea (cresta iliaca) y observaron una mayor tasa de reparación tendinosa y una menor tasa de rerrotura en el grupo de MSC (88). Las MSC derivadas de adipocitos tienen la ventaja con respecto a las células procedentes de la médula ósea que presentan menor morbilidad en el proceso de extracción (microliposucción). Chen y cols. realizaron un estudio en ratas con roturas inducidas por una colagenasa observando mejores propiedades biomecánicas tras solo una inyección de MSC derivados de adipocitos humanos comparado con un grupo control donde se inyectó suero salino fisiológico (89). También se

pueden obtener células progenitoras de no origen hematopoyético como las derivadas de músculo o tendón pero cuentan con el inconveniente de que se tienen que cultivar previo a la implantación lo que complica considerablemente su empleo, y hay que añadir a ello la morbilidad del sitio donante (90).

#### **1.10.2.4 Terapia genética**

Las terapias génicas y de transferencia genética ofrecen nuevas posibilidades en el manejo de la respuesta reparadora siendo, por lo tanto, objeto de estudio de varios investigadores (91,92). La utilización clínica de los factores de crecimiento está limitada principalmente por el problema de su liberación. Dado que se requiere una liberación continuada, la corta vida biológica de los factores de crecimiento representa el principal factor limitante para el éxito del tratamiento. De ahí que nuevas tecnologías como la terapia génica representen una nueva posibilidad para la administración local de estos factores.

Esta técnica está basada en la alteración de la información genética celular y es aplicable en el tratamiento de las lesiones del manguito rotador mediante la transferencia de genes, codificados para factores de crecimiento específicos, en los tenocitos, en la bursa subacromial o células progenitoras.

Pueden utilizarse vectores virales y no virales para la liberación del material genético en las células. Los sistemas de transferencia no viral como los liposomas, ADN desnudos o ligandos de ADN, suelen ser más fáciles de producir y presentan una menor toxicidad pero su eficiencia se ve reducida por una baja tasa de infección. Actualmente los vectores genéticos virales, incluyendo retrovirus, adenovirus y virus herpes constituyen un método más eficiente de transferencia genética (93).

El mayor inconveniente de la terapia génica es la seguridad. Los vectores que se integran en el genoma de las células presentan el riesgo de inducir mutagénesis y desarrollo de un crecimiento celular anormal y toxicidad debido a la sobreexpresión crónica del factor de crecimiento. Además al contrario que en el tratamiento de enfermedades crónicas, la expresión transgénica deseada se requiere durante un cierto período de tiempo hasta que se ha completado la curación.

## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---

## 2.1 Hipótesis

1- Actualmente la cirugía reparadora del manguito por los diferentes tipos de abordaje y técnicas existentes no logra obtener resultados satisfactorios en todos los casos, sobre todo en aquellos en los que se produce una rotura completa del tendón, observándose un porcentaje significativo de rerroturas y fracasos clínicos. Mediante técnicas de imagen, se ha demostrado que el tejido de reparación tendinoso es defectuoso y muestra defectos estructurales que afectan a la función del mismo. Este hecho ha sido constatado histológicamente apreciando que dicho tejido presenta, entre otros hallazgos, un adelgazamiento y desorganización en las fibras colágenas.

2- El fracaso en la generación de un tejido de características similares a un tendón normal durante el proceso de regeneración, podría estar en relación con la ausencia de señales moleculares adecuadas y por lo tanto con la ausencia de una correcta diferenciación celular en la zona de la lesión.

3- El empleo de matrices de diferentes características reforzaría la sutura tendinosa proporcionando un apoyo biomecánico importante que incrementaría la resistencia de la sutura, actuando por otro lado como transportador de células y factores.

4- Si la familia de la Proteínas Morfogenéticas ejerce un papel esencial en el proceso de desarrollo y regeneración del tendón parece lógico pensar que juegan un papel esencial en la reparación del mismo.

5- Si tras estudiar los fenómenos de reparación de las lesiones tendinosas crónicas se ha observado una dificultad en el proceso de diferenciación hacia tenocitos de las células madre mesenquimales, aplicando las señales adecuadas se podría mejorar la calidad del tejido reparador.

Nuestra hipótesis por tanto es la siguiente:

La aplicación de factores de crecimiento vehiculizadas en el transportador adecuado, en el contexto de una lesión crónica del manguito, puede contribuir a la mejora en el proceso de reparación tanto histológica- como biomecánicamente.

## **2.2 Objetivos**

### **2.2.1 Objetivo principal**

Evaluación del empleo del transportador compuesto Alginato-Quitina de forma aislada y en combinación con diferentes dosis de rhBMP-2 en el proceso de reparación de una lesión tendinosa crónica.

### **2.2.2 Objetivos concretos**

- 1- Valorar si la adición del transportador compuesto Alginato-Quitina favorece una mejora tanto histológica- como biomecánica del tendón supraespinoso en comparación con la sutura aislada.
- 2- Valorar si la adición de rhBMP-2 (20µg) al transportador ocasiona una mejora tanto histológica como biomecánica del tendón supraespinoso en comparación con el empleo de transportador de forma aislada.
- 3- Evaluar si la acción de la rhBMP-2 se ve modificada en función de su unión a uno u otro de los compuestos del transportador (Alginato o Quitina).
- 4- Evaluar si los resultados obtenidos con el empleo del compuesto transportador-rhBMP-2 es dosis dependiente (concentración 2 mg/ml o 40µg).

# III.

# MATERIAL Y MÉTODO

---



### 3.1 Animal de experimentación

Para el modelo de cirugía experimental se han empleado un total de 64 ratas tipo Sprague-Dawley de 8 meses de edad con pesos comprendidos entre 480 y 850 gramos, todos ellos machos y procedentes del mismo laboratorio (Charles River Laboratories) (*figura 3.1*). La realización de este estudio fue aprobado por la Comisión de Ética y Bienestar Animal del centro hospitalario donde se han realizado los procedimientos, a su vez se remitió una comunicación de procedimiento a la Sección de Protección Animal de la Consejería de Medio Ambiente de la Comunidad en la que se ubica dicho hospital.



*Figura 3.1: Rata tipo Sprague-Dawley.*

### 3.1.1 Manejo

Los animales se mantuvieron en el animalario del Hospital Clínico San Carlos con las condiciones de estabulación, luz y temperatura exigidas en el RD 53/2013 sobre protección de animales utilizados en experimentación y otros fines científicos (94). La superficie mínima de las jaulas era de 1500 cm<sup>2</sup> y 18 cm de altura (*figura 3.2*). Tenían acceso a agua y pienso de mantenimiento de roedores (14% de proteínas) *ad libitum* y se mantuvieron en temperatura ambiente de 20-24°C y con 12 horas de luz diarias. Las ratas se estabularon de forma individual las primeras 24-48 horas tras las cirugías y posteriormente se mantuvieron en jaulas con otros animales según las normativas vigentes. El cumplimiento de estas exigencias estuvo a cargo del personal veterinario del Animalario de nuestro centro, quienes elaboraron eficazmente un protocolo de supervisión de los animales siguiendo las directrices propuestas por David Morton, que incluyeron los aspectos siguientes:

- Reducción: Se limitaron el número de animales haciendo un cuidadoso diseño de los grupos.
- Refinamiento: Se utilizaron técnicas mínimamente invasivas, como la técnica de microcirugía.
- Reemplazamiento: No existe actualmente otro modelo inanimado que pueda aportar la información obtenida del desarrollo de estas técnicas de lesión y reparación.



*Figura 3.2: Ratas estabuladas con acceso a agua y pienso.*

### **3.2 Anestesia y analgesia**

La intervención se realizó sobre una manta térmica bajo anestesia general, con profilaxis antibiótica (Enrofloxacino 5mg/Kg/24h s.c.) y tratamiento antiinflamatorio (Meloxicam 0,2mg/Kg/24h s.c.) y analgésico (Buprenorfina (0,1mg/Kg/12h s.c.)).



***Figura 3.3: Inducción con Isoflorano.***

Los animales intervenidos fueron sometidos a una inducción anestésica con Isoflorano al 4% para posteriormente mantener la sedación con Isoflorano al 2% (*figura 3.3*). Se utilizó Medetomidina 0,3mg/Kg y Fentanilo 0,3 mg/Kg, ambos intraperitoneales. Tras la inducción se procedió a realizar una intubación orotraqueal con un catéter intravenoso de 14G (Introcan Safety ® B/Braun) y ventilación con un ventilador mecánico tipo Datex-Ohmeda con un volumen corriente de 10 ml/Kg o una presión inspiratoria de 12-14 cm H<sub>2</sub>O, presión máxima de 20 mmHg, frecuencia respiratoria de 50-60 respiraciones por minuto, un índice de inspiración/expiración de 1:2 y una presión positiva al final de la respiración de 4 mmHg (*figura 3.4 y 3.5*).



***Figura 3.4: Equipo y monitorización anestésica.***

El mantenimiento se realizó con Isoflorano al 2%. Se administró una primera dosis de antibioterapia al iniciar la anestesia (Enrofloxacino 5mg/Kg/24h s.c.) y al finalizar la cirugía se administró una dosis de antiinflamatorio (Meloxicam 0,2mg/Kg/24h s.c.) y analgésico (Buprenorfina (0,1mg/Kg/12h s.c.)



*Figura 3.5: Rata intubada sobre manta térmica.*

Se realizó, además, anestesia local en la zona de la incisión quirúrgica mediante 0,6 cc de Mepivacaína al 2%.

Durante los tres primeros días los animales fueron sometidos a tratamiento antibiótico, antiinflamatorio y analgésico según dosis previas. Durante todo el postoperatorio se les permitió movilidad libre en la jaula.

### **3.3 Materiales empleados**

#### **3.3.1 Reparación**

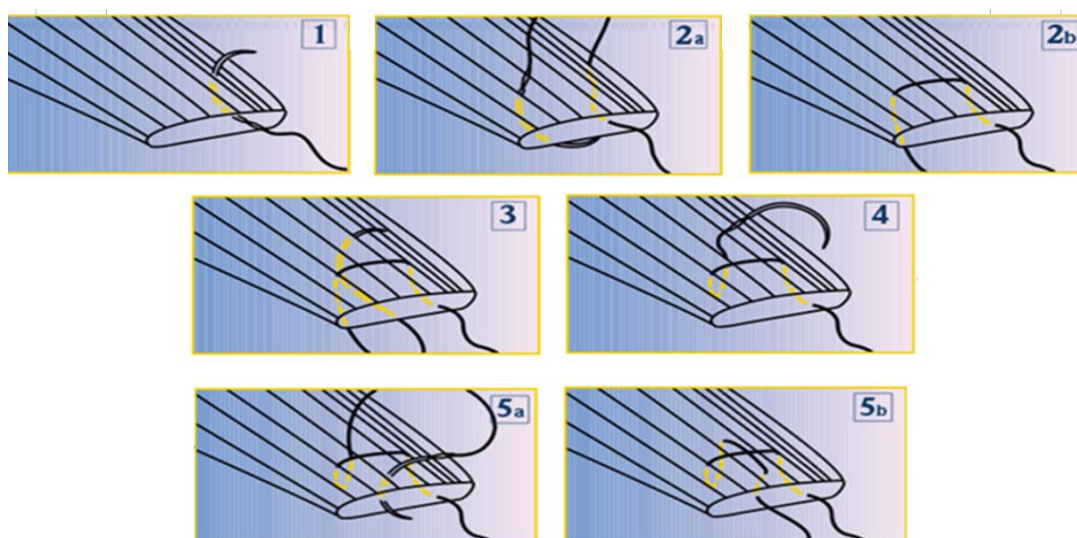
Para la reparación de los hombros lesionados de las ratas se utilizaron dos materiales:

Una sutura tipo Polipropileno (Prolene®, Ethicon, Johnson and Johnson) 6/0 y un transportador de Alginato (Alginic Acid, A28309 de Sigma Aldrich) - Quitina (Chitin, C3641 de Sigma Aldrich) con rhBMP-2 suministrada por Noricum (lote B02B05).



### 3.3.1.1 Polipropileno 6/0 (Prolene® 6/0):

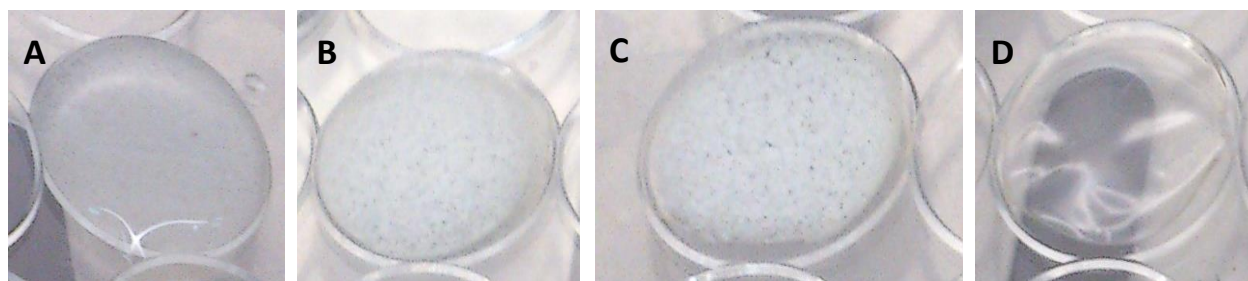
El Prolene® es una sutura sintética de monofilamento no reabsorbible de características similares a polyester y nylon. Se utilizó tanto para el marcaje del cabo tendinoso en la primera cirugía de la sección tendinosa como para realizar una sutura tipo Mason Allen modificada en el momento de la reparación (*figura 3.6*).



**Figura 3.6:** Esquema de sutura tipo Mason Allen modificada.

### 3.3.1.2 Transportador de Alginato-Quitina

Los transportadores se desarrollaron en el Instituto de Estudios Biofuncionales de la UCM. Para ello se preparó Alginato al 2% en ácido acético al 1% y se dejó agitando 2 horas a temperatura ambiente. Tras filtrarlo por 0,22  $\mu\text{m}$  en esterilidad se prepararon alícuotas de 100  $\mu\text{l}$  de volumen final en campana de flujo laminar vertical (*figura 3.7*).

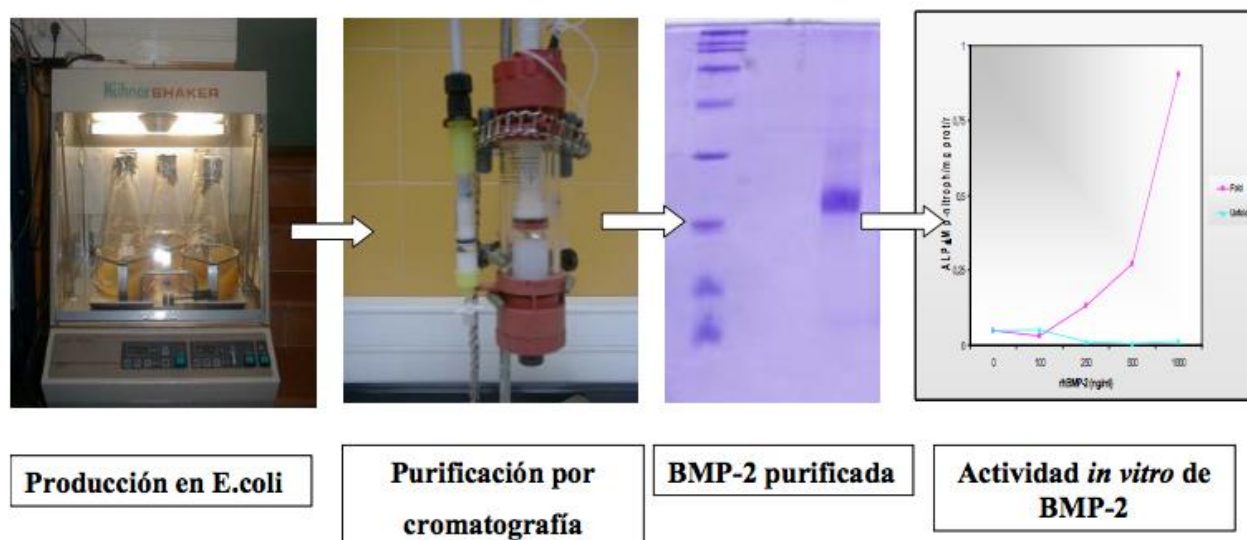


**Figura 3.7:** Preparación de los filmes vía evaporación de solvente. Tras la obtención de la solución correspondiente (alginato y quitina), se alicuotan 100uL en condiciones estériles. Tras 24h de secado en campana de flujo laminar, se obtienen los correspondientes filmes (A: Gota de la solución, B: alginato y quitina, C: alginato, quitina y BMP-2, y D: alginato).

### 3.3.1.3 rhBMP-2

La obtención de la proteína recombinante rhBMP-2 se realizó por el grupo de ingeniería de tejidos del Instituto de Estudios Biofuncionales de Madrid. La secuencia de ADN codificante de la forma madura de la proteína BMP-2 humana se obtuvo mediante amplificación por PCR a partir de una librería genómica de placenta humana. Las secuencias se ligaron al plásmido pT7.7 y se expresó la proteína en la cepa BL21 de *E. coli* transformada con el plásmido construido. La purificación y el plegamiento correcto de las proteínas se llevaron a cabo mediante protocolos descritos previamente (figura 3.8) (95).





**Figura 3.8:** Producción, purificación y evaluación de la actividad de BMP.

Para la constitución de las diferentes muestras a emplear se procedió como se detalla a continuación (*figura 3.9*):

Muestra Doble Control: se mezclan 100  $\mu$ l de alginato 2% con 1,5mg de quitina y se realiza el filme. Se deja secar 24 horas hasta el día siguiente.

Muestra Control Quitina: se prepara alginato 80  $\mu$ l y 20  $\mu$ g de proteína rhBMP-2 (1mg/ml). Se deja en agitación a 4°C durante la noche. Al día siguiente se mezcla con 1,5 mg aproximadamente de quitina en polvo estéril por radiación gamma. Se mezcla bien con pipeteo constante y se realiza un filme en condiciones estériles. Se deja secar las solventes 24 horas y se obtiene el filme (técnica de evaporación de solvente).

Muestra Control Alginato: se prepara igual pero el alginato no lleva la proteína rhBMP-2 sino que ésta se añade a 1,5 mg de quitina. Se lleva la quitina con proteína (20 $\mu$ g) a agitación a 4°C

durante la noche. El alginato se prepara al día siguiente y se mezcla con la quitina y proteína y se hace filmes en las mismas condiciones.

Muestra Doble Muestra: hay BMP en los dos transportadores. 70  $\mu$ l de alginato al 2% contiene 20 $\mu$ g de rhBMP-2 y se lleva a agitar a 4°C durante la noche junto con otro tubo de ensayo donde se encuentran los 1,5 mg de quitina y 20  $\mu$ g de proteína. El día siguiente se mezclan ambos tubos de ensayo y se hace el filme.



*Figura 3.9: Obtención del filme.*

Prevía implantación, los filmes fueron filtrados en condiciones estériles.

## **3.4 Modelo de lesión**

### **3.4.1 Sección del tendón supraespinoso**

La rata se posicionó en decúbito supino fijándose el miembro superior a intervenir en aducción y rotación interna con esparadrapo de tela. El miembro superior contralateral se fijó en abducción de unos 60° (*figura 3.10*).



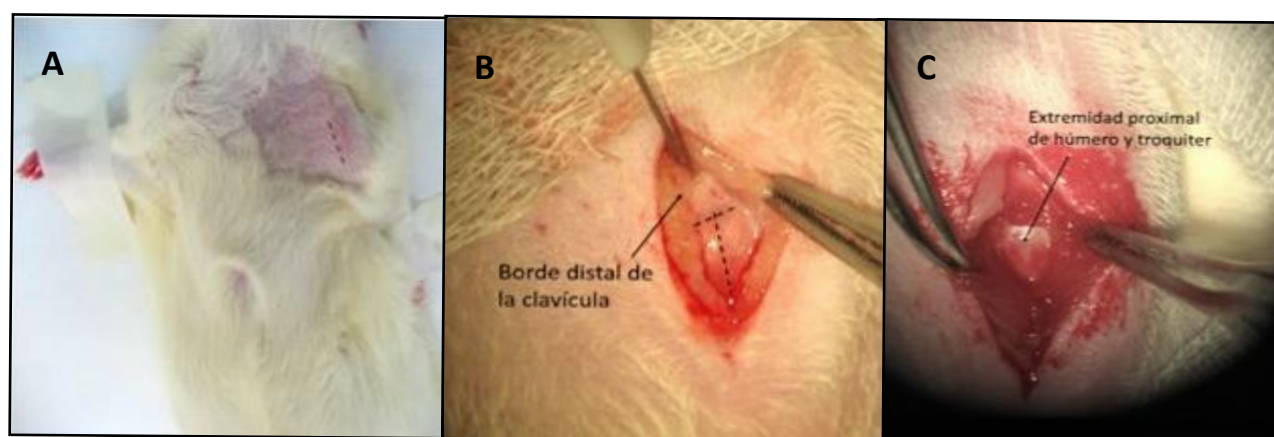
***Figura 3.10: Posición de la rata.***

Mediante el uso de un microscopio microquirúrgico tipo Leica® M500-N MC1 (Leica Microsystems, Schwiz) se procedió a la incisión quirúrgica de la piel con un bisturí del nº11 en la zona anterior del hombro de aproximadamente 1 cm (*figura 3.11*).



***Figura 3.11: La intervención quirúrgica mediante microscopio microquirúrgico.***

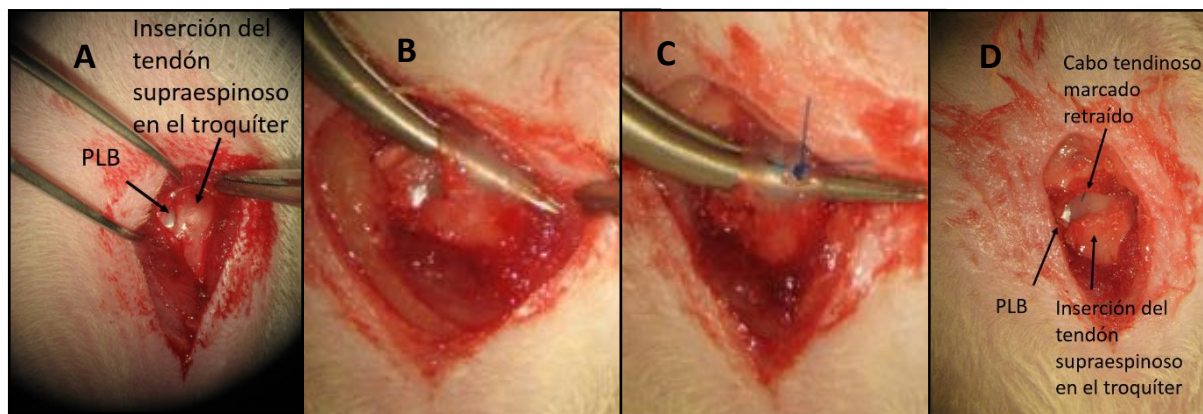
Como referencia proximal se utilizó la articulación acromioclavicular y como referencia distal la línea media de la metáfisis humeral (*figura 3.12*). El plano subcutáneo se disecó siguiendo la incisión de la piel hasta llegar al deltoides que se desiertó mediante una incisión en “T”; la incisión longitudinal desde la zona media de la metáfisis humeral hasta unos milímetros distales a la clavícula siguiendo las fibras musculares y la incisión transversal en la zona proximal de la incisión longitudinal desinsertando así los vientres anterior y medio del músculo deltoides. Estos vientres musculares se reflejaron hacia medial y lateral respectivamente exponiendo la extremidad proximal del húmero y el tendón supraespinoso por debajo del arco óseo formado por coracoides, clavícula y acromion.



**Figura 3.12:** A) Incisión longitudinal en la piel, B) incisión “en T” en el deltoides y C) exposición de la extremidad proximal del húmero.

Se disecó parte de la bursa del supraespinoso para una mejor visualización del tendón. Se separó el tendón del supraespinoso de la cabeza humeral mediante unas pinzas de disección tipo fina curva (*figura 3.13*). Tras aislar el tendón se procedió al marcaje del mismo con un punto de sutura tipo Prolene® 6/0. La sección tendinosa se realizó con un bisturí del nº11 a

aproximadamente 1 mm de la inserción osteotendinosa. Se comprobó la retracción completa del tendón supraespinoso tras la sección del mismo.



**Figura 3.13:** A) Exposición del tendón supraespinoso y la PLB tras disecar la bursa en la zona anterior. B) Aislamiento del tendón supraespinoso con una pinza de disección fina curva. C) Sutura de marcaje con Prolene 6/0. D) El espacio osteotendinoso que se observa tras la sección y retracción del cabo tendinoso.

El cierre se realizó por planos con Vicryl Rapide® 4/0. El deltoides y el subcutáneo se suturaron con puntos sueltos de mientras que la piel se suturó con una sutura intradérmica y puntos sueltos de refuerzo (figura 3.14).

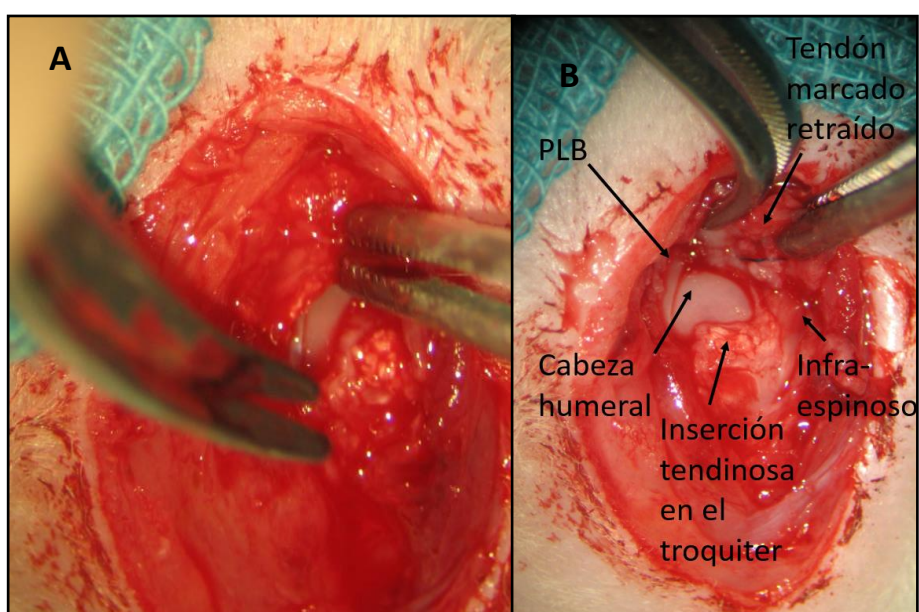


**Figura 3.14:** Cierre con sutura intradérmica.



### 3.4.2 Reparación del tendón supraespinoso

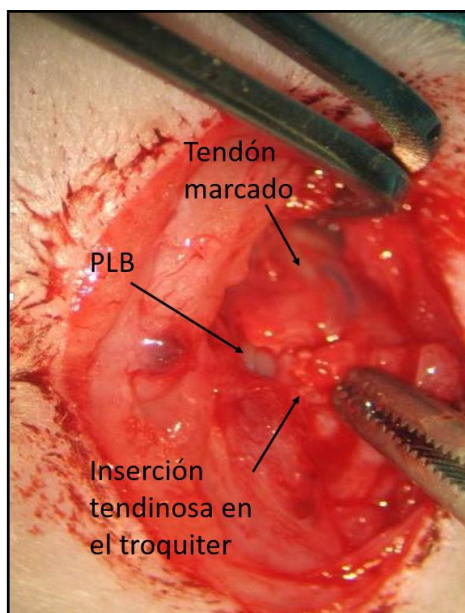
La reparación se llevó a cabo a las 4 semanas de la creación de la lesión. Tras posicionar la rata como se ha descrito en el apartado anterior se procedió a realizar la misma incisión quirúrgica pero de aproximadamente 2 cm de longitud. Traspasado el plano muscular se comprobó la existencia de un espacio osteotendinoso del tendón del supraespinoso bajo la visión del microscopio.



**Figura 3.15:** A) Resección de fibrosis perilesional. B) Visualización de la retracción tendinosa y el espacio osteotendinoso.

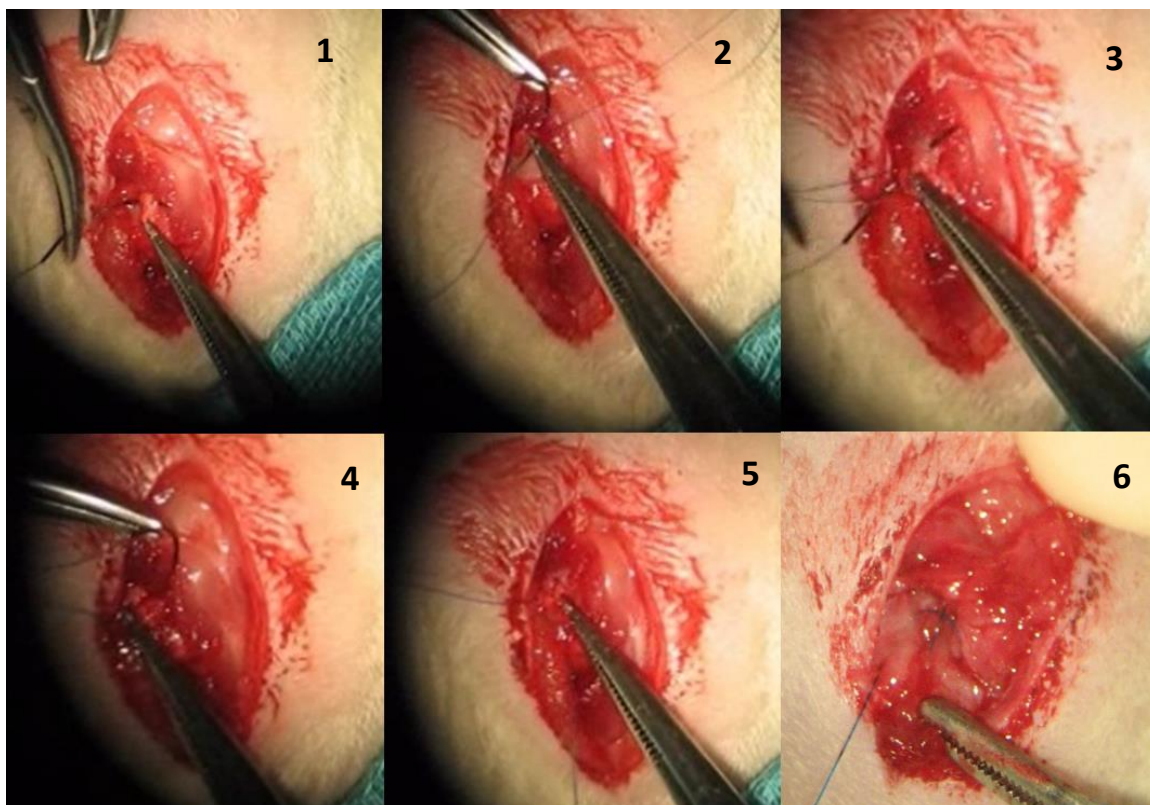
La fibrosis perilesional se disecó de las estructuras adyacentes como la porción larga del bíceps, el tendón del subescapular e infraespinoso y la clavícula hasta identificar el cabo proximal del tendón (*figura 3.15*). Se identificó la zona de la inserción del tendón supraespinoso en el troquíter para refrescar los bordes además de reseca restos y fibrosis del cabo distal del tendón supraespinoso. La zona anterior de la extremidad proximal del húmero se disecó hasta obtener una buena visualización del troquíter lateralmente y de la diáfisis humeral distal al ligamento transversal del canal bicipital.

Tras la identificación y liberación del tendón se comprobó la movilidad del mismo y de su vientre muscular realizando una suave tracción hacia su punto de inserción (*figura 3.16*).



**Figura 3.16:** Tracción del cabo tendinoso observándose una buena aposición con el troquíter.

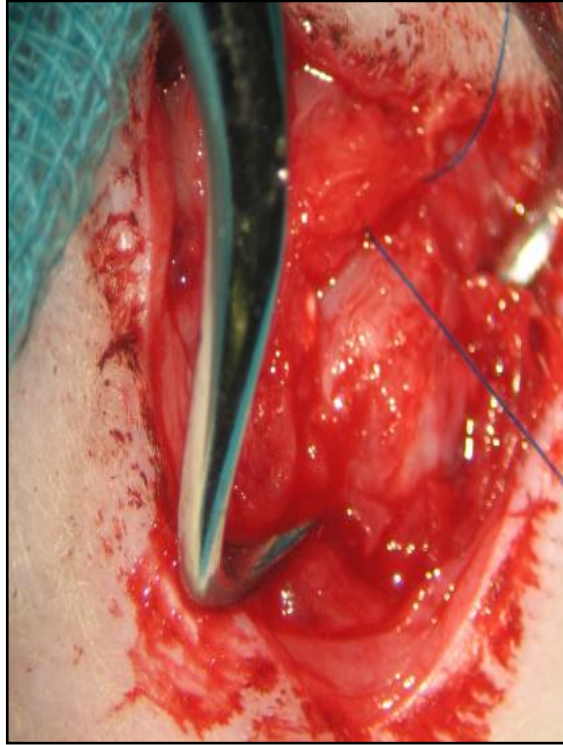
Tras tener tanto el tendón como la inserción bien identificados se realizó una sutura tipo Mason Allen modificada del cabo proximal del tendón con un Prolene® 6/0 (*figura 3.17*).



***Figura 3.17:*** Sutura tipo Mason Allen modificada del cabo tendinoso del supraespinoso.

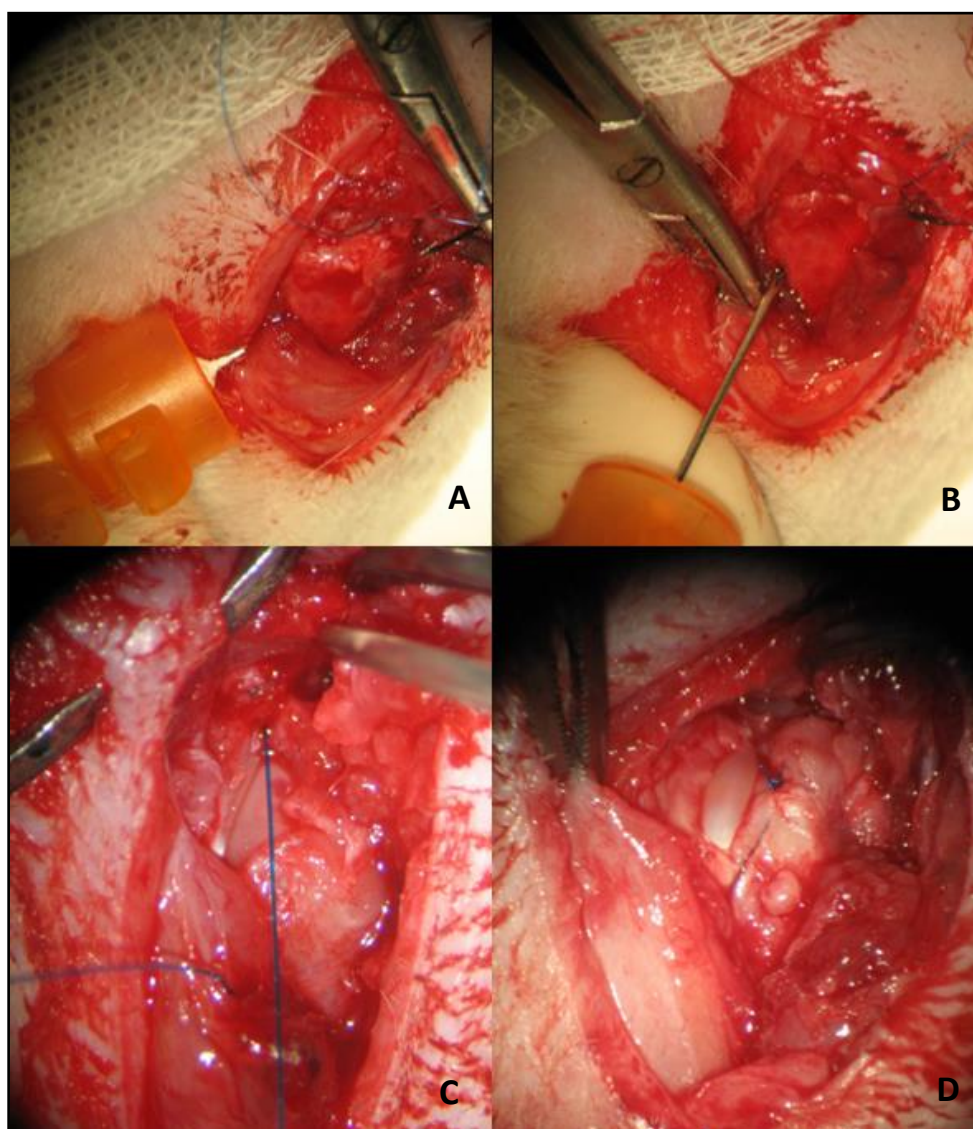
Se realizó un túnel transóseo en el húmero proximal con una pinza tipo Backhaus desde superolateral hacia anteroinferior (*figura 3.18*). Como puntos de referencia se usaron la cortical lateral inferior al troquín (punto de entrada superolateral) y la cara anteromedial de la diáfisis humeral distal al ligamento transversal (la anteroinferior).





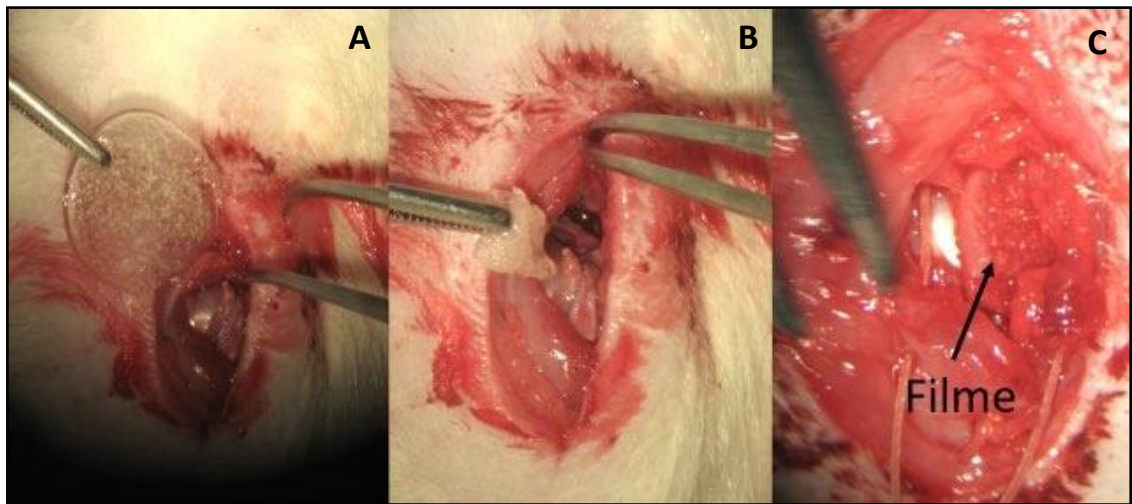
**Figura 3.18:** *Realización de túnel transóseo.*

Se pasó una aguja subcutánea desde el punto anteroinferior hacia el superolateral para posteriormente enhebrar la aguja del Prolene® en la punta de la aguja subcutánea (*figura 3.19*). De esa forma, al retirar la aguja subcutánea se pasó además la sutura del Prolene®. Tras realizar una antepulsión del hombro se aproximó el tendón supraespinoso a su inserción humeral para posteriormente anudar la sutura sin que estuviese sometida a una tensión excesiva.



**Figura 3.19:** A) Se enhebra la aguja de la sutura con la aguja subcutánea. B) Se pasa la aguja subcutánea y con ella la sutura. C) Sutura pasada por el túnel transóseo. D) Sutura transósea anudada.

Se comprobó la correcta posición del tendón del supraespinoso en su inserción humeral. En los grupos en los que se usaba un filme este se aplicaba sobre la unión osteotendinosa tras sumergirlos, en el mismo acto quirúrgico, en una solución de cloruro cálcico al 0.2M en condiciones estériles (figura 3.20).



**Figura 3.20:** *Implantación del filme. A) exposición del filme. B) filme tras sumersión en cloruro cálcico. C) Filme implantado sobre tendón reparado.*

Se procedió posteriormente a realizar un cierre por planos igual que en la primera intervención.

### 3.5 Grupos de estudio

Se emplearon 64 ratas para obtener un total de 10 ratas en cada grupo. Todos los animales fueron sometidos a una sección unilateral del tendón supraespinoso procediéndose a la reparación posterior del mismo a las 4 semanas de la lesión. A los 4 meses de la reparación tendinosa se analizaron los resultados obtenidos mediante estudios histológicos y biomecánicos donde el hombro contralateral servía como control. Las ratas fueron divididas en 5 grupos tras aleatorización de los animales de experimentación mediante programa informático (Excel, Microsoft, Redmond, VA).

#### GRUPO I: Grupo Sutura, n=10

Los animales fueron sometidos a una reparación de la sección tendinosa mediante una sutura transósea tipo Prolene® sin aportarse otros tipos de materiales.

#### GRUPO II: Grupo Doble Control, n=10

Tras la sección tendinosa se procedió a la reparación de la misma mediante la misma sutura que en el grupo anterior aportándose además un filme de alginato y quitina.

#### GRUPO III: Grupo Control Alginato, n=10

En este grupo de estudio se incluyeron 10 ratas con una reparación tendinosa empleándose la sutura descrita previamente y un filme de alginato-quitina actuando la quitina como transportador de la rhBMP-2.

#### GRUPO IV: Grupo Control Quitina, n=10

La reparación se realizó con sutura y además se añadió un filme de alginato-quitina actuando el alginato como transportador de la rhBMP-2.

#### GRUPO V: Grupo Doble Muestra, (n=10)

En el mismo acto quirúrgico se aportó un parche con quitina-rhBMP-2 y alginato-rhBMP-2. Es decir, a los dos compuestos del transportador se les añadió la proteína morfogenética

Para la consecución de un total de 10 ratas en cada grupo se registraron las siguientes pérdidas de seguimiento por grupo (*tabla 3.1*).

Grupo	I	II	III	VI	V
Pérdidas	3	2	3	3	3

**Tabla 3.1:** Pérdidas según grupos. Todos fueron debidos a fallecimiento el primer día postoperatorio.

### 3.6 Método de eutanasia

Al finalizarse el periodo de observación (4 meses), los animales fueron sacrificados. Para ello se realizó una sedación mediante Isoflorano al 4% para posteriormente, según el protocolo de Bienestar Animal, proceder con la eutanasia introduciendo a los animales en una caja cerrada herméticamente utilizando una atmósfera de CO<sub>2</sub> (94,96).

Posteriormente, para realizar la extracción de las piezas escapulohumerales, se realizó una amputación interescapulotorácica (*figura 3.21*). Tras la disección y desinserción del deltoides y del trapecio se procedió a la disección de la pared posteroinferior de la clavícula con la consecutiva exposición del neotendón en la parte más distal. Posteriormente se realizó una luxación acromioclavicular y desinserción de subescapular, infraespinoso, redondo mayor y menor tanto de sus orígenes como de las inserciones al igual que el resto de la musculatura y ligamentos perihumerales y paraescapulares.



**Figura 3.21:** Disección de la articulación escapulohumeral con posterior exposición del tendón supraespinoso.

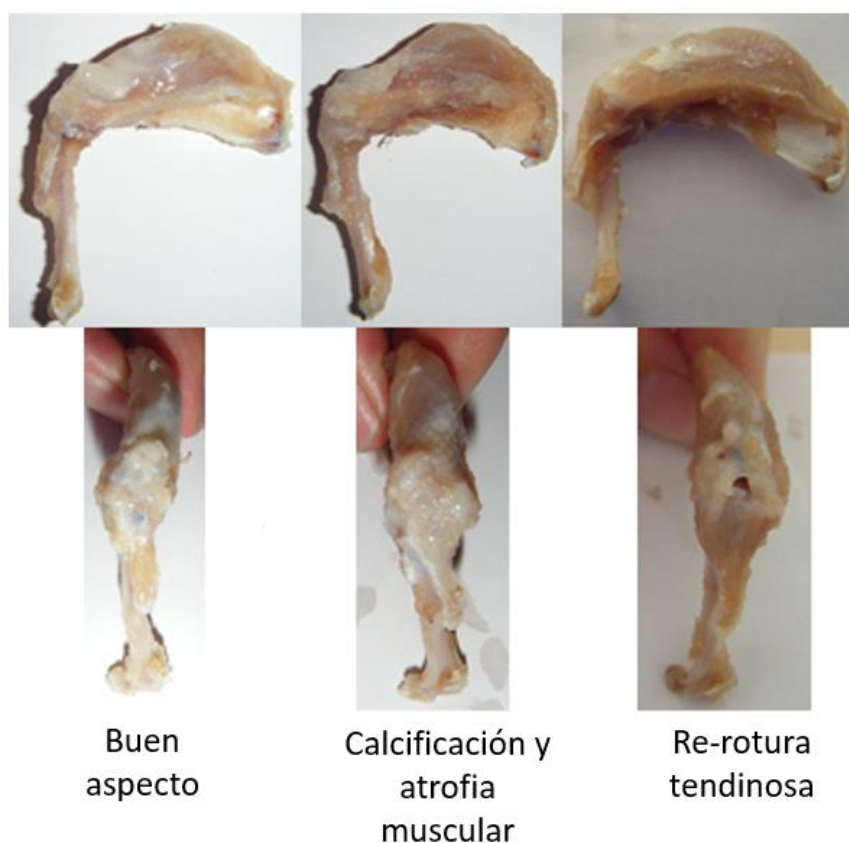
### 3.7 Estudio macroscópico

La evaluación macroscópica es la fuente de información más sencilla. En el momento tanto de la reintervención como del sacrificio del animal, se registran y fotografían aspectos macroscópicos del estado de la articulación, del defecto o del tejido de reparación.

Durante la primera fase del procedimiento la evaluación macroscópica consistía en la determinación de la existencia de la lesión crónica objetivando la ausencia de continuidad tendinosa y la existencia de un espacio osteotendinoso (una brecha entre el tendón marcado y su inserción en el troquíter), así mismo se descartó la presencia de procesos infecciosos o inflamatorios.



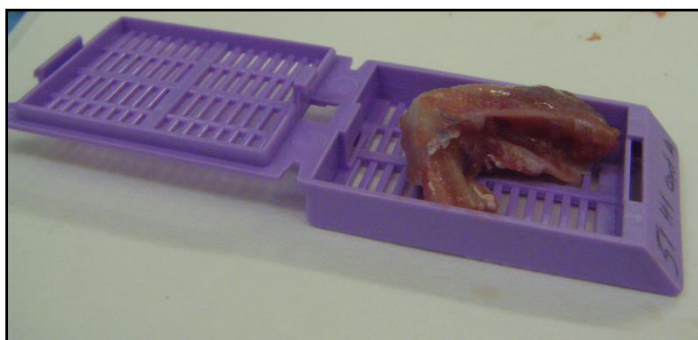
Tras el sacrificio del animal la evaluación macroscópica consistió en la constatación de una continuidad macroscópica del tendón lesionado, su ausencia (rerrotura o ausencia de cicatrización) y la valoración de la existencia de atrofia muscular evidente, calcificaciones, líquido articular de características anormales o fibrosis cicatricial que pudieran indicar un proceso infeccioso o una reacción de cuerpo extraño (*figura 3.22*). Ante la sospecha de alguno de estos procesos las muestras serían enviadas a estudio anatomopatológico y microbiológico.



**Figura 3.22:** Imagen macroscópica del tendón y vientre muscular del supraespinoso en el momento de la eutanasia.

### 3.8 Estudio histológico

Para el estudio histológico se emplearon, como reactivos comunes a todas las tinciones realizadas, etanol 70%, 96% y 100%, xilol y agua destilada. En cuanto a la tinción Tricrómico de Masson se empleó: tinción de Bouin (compuesta por ácido pícrico, formaldehído y ácido acético glacial), hematoxilina (compuesta por hematoxilina, cloruro férrico y ácido clorhídrico), solución azul de anilina (compuesta por azul de anilina y ácido acético glacial) y ácido acético 1%. Para la tinción de Hematoxilina-Eosina se utilizó la hematoxilina eosina alcohólica y carbonato de litio. En el caso de la tinción Rojo Sirio, se empleó el colorante rojo sirio así como ácido acético glacial.



**Figura 3.23:** *Pieza escapulohumeral en un casete que se introdució en Formaldehído para posteriormente ser embebido en parafina.*

Las piezas destinadas al análisis histológico (n=5 de cada grupo) se fijaron en Formaldehído 4% estabilizado a pH 7 (*figura 3.23*). Fueron descalcificadas 12-16 días en función del grosor de la muestra y a continuación fueron parafinadas y cortadas en bloque con un micrótomos (*figura 3.24*). Posteriormente fueron teñidas con la técnica estándar de Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson-Goldner y Rojo Sirio, de acuerdo con los siguientes protocolos.





**Figura 3.24:** *Muestra escapulohumeral embebidas en parafina que posteriormente se cortan en un microtomo.*

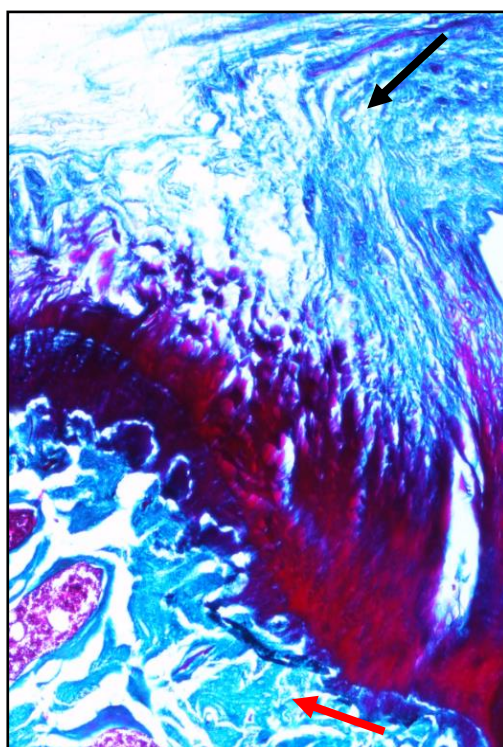
### **3.8.1 Tinción con Tricrómico de Masson-Goldner**

Las muestras, una vez desparafinadas a 60° durante 30 minutos, se sumergieron en xilol durante 15 minutos. Después, se rehidrataron mediante inmersión en diluciones decrecientes de etanol (100%, 96% y 70%) en periodos de 5 minutos.

Posteriormente se sumergieron en agua destilada y se tiñeron durante 1 hora a 56°C en solución de Bouin (ácido pícrico 75%, formaldehído 10% y ácido acético glacial 5%). Tras retirar el exceso de colorante amarillo con agua, se tiñeron durante 10 minutos, con hematoxilina de Wegert que se preparaba con: hematoxilina 1% en etanol 100% y cloruro férrico 1%, ácido clorhídrico 1% en agua destilada. Seguidamente, y después de lavar las muestras con agua destilada durante 5 minutos, se sumergieron en la solución de contraste azul de anilina (azul de anilina 2,5%, ácido acético glacial 2% en agua destilada) durante 30 segundos. De nuevo, se realizó un lavado con agua destilada y por último se trataron las muestras con una solución de

ácido acético 1% en agua destilada durante 4 minutos. Tras deshidratar, lavar y montar, las muestras fueron analizadas con un microscopio Leica® DMI 4000B, objetivos de 20X y 40X, y fotografiadas con una cámara Leica® DFC 420C 5Mpx acoplada al microscopio (*figura 3.25*).

Los resultados de la tinción son: en rojo fibras musculares, queratina y citoplasma, en azul fibras de colágeno y cartílago y en negro los núcleos celulares.

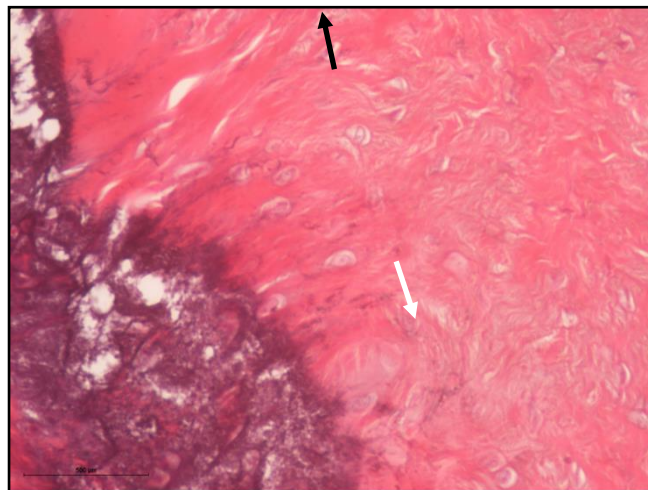


**Figura 3.25:** Tinción Tricrómico de Masson-Goldner de un corte coronal de la inserción tendinosa del tendón supraespinoso en una rata no intervenida. Se observan fibras ordenadas de colágeno en la parte superior de la imagen (color azul, flecha negra) mientras que el citoplasma se tiñe de color rojo y los núcleos celulares de color lila. La zona inferior de la imagen muestra la estructura ósea del humero proximal (color azul, flecha roja).

### 3.8.2 Tinción con Hematoxilina-Eosina

Tras el proceso de desparafinado las muestras se mantuvieron en una estufa durante 20 minutos a 60°C y a continuación se sumergieron en xilol durante 10 minutos. Posteriormente se hidrataron con alcohol absoluto 5 minutos para luego ser sumergidas en alcohol de 96° durante 20 segundos. Fueron lavadas con agua destilada y sumergidas en hematoxilina durante 10 minutos para luego ser lavadas con agua durante 5 minutos antes de sumergirlas en eosina alcohólica 10 segundos. Finalmente fueron deshidratadas introduciéndolas en alcohol 100° durante 1 minuto y en alcohol de 96° durante otro minuto.

Esta tinción muestra los núcleos de color azul, los citoplasmas acidófilos en rojo y los citoplasmas basófilos en morado (*figura 3.26*). Además muestra el músculo en color rosa intenso, los glóbulos rojos en naranja y el colágeno en color rosa más pálido.

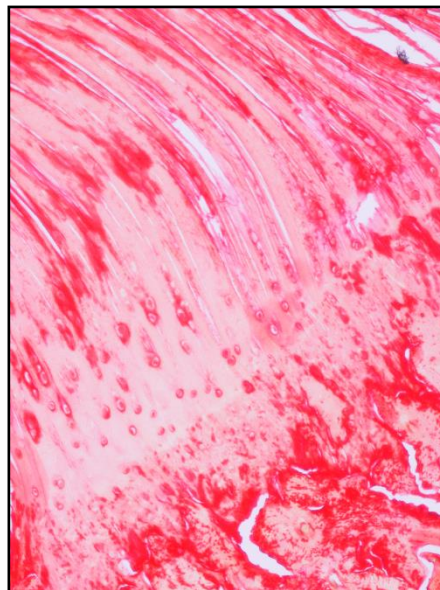


**Figura 3.26:** Zona de transición de la inserción del tendón supraespinoso en una rata no intervenida. Las fibras de colágeno se tiñen de color rosa mientras los núcleos se observan de color violáceo, en esta imagen tanto tenocitos (flecha negra) como condrocitos (flecha blanca).

### 3.8.3 Tinción con Rojo Sirio

Tras desparafinar y deshidratar los cortes se lavaron durante 10 minutos con agua. Posteriormente se incubaron en solución de rojo sirio (rojo sirio 10% en ácido pícrico saturado) durante 48 horas efectuándose posteriormente la tinción con la solución de rojo sirio durante 30 minutos. Las secciones se mantuvieron durante 5 días en etanol absoluto, se aclararon y finalmente se montaron.

El rojo sirio es un cromógeno que tiñe casi exclusivamente las fibras de colágeno, el componente fundamental de la matriz extracelular, y es una de las técnicas más potentes para determinar la remodelación del colágeno (97). La tinción refuerza por la birrefringencia de las fibras de colágeno tiñendo estas de color rojo y las fibras musculares y el citoplasma de amarillo (*figura 3.27*).



**Figura 3.27:** Tinción Rojo Sirio de la zona de transición de la unión osteotendinosa del supraespinoso de un hombro no intervenido. Se observan las fibras de colágeno de color rojo y los núcleos, citoplasma y fibras musculares de color amarillo/rosa.

### 3.8.4 Evaluación histológica

Para realizar la valoración de las tinciones histológicas tanto en los casos de lesión crónica como en los casos de reparación, se utilizó una escala de valoración semicuantitativa basada en la escala de Åström y Rausing, adaptándola a este estudio (98). Se tuvieron en cuenta las características histológicas clave en los procesos de cicatrización que marcan la evolución de la misma y están relacionadas con la respuesta fisiológica normal de un tendón ante un daño de tipo crónico. Los cortes histológicos se evaluaron de forma independiente por dos investigadores ciegos a los grupos de estudio. Posteriormente se ponían en común las valoraciones, y si existían diferencias en la valoración de alguno de los cortes histológicos se otorgaba una valoración tras alcanzar el consenso entre los investigadores.

Los parámetros evaluados fueron:

1. *Matriz extracelular de colágeno*: orientación de las fibras que discurren de forma paralela o desorganización de las fibras.
2. *Inflamación de la bursa*: presencia o ausencia de infiltrado inflamatorio en la bursa o incluso dentro de la matriz tendinosa: linfocitos, mastocitos, macrófagos, etc...
3. *Celularidad*: presencia de tenocitos (células alargadas con un pequeño núcleo), presencia de células con núcleo redondeado y aumento de la celularidad.

4. *Metaplasia condroide*: ausencia o presencia de condrocitos dentro de la matriz tendinosa.
5. *Vascularización*: presencia de arteriolas que discurren de forma paralela a las fibras de colágeno, vascularización irregular o presencia de vasos de pared delgada que discurren de forma desorganizada incluso perpendiculares a las fibras de colágeno.
6. *Zona de transición de tendón a hueso*: trabeculado de transición normal entre hueso y tendón, presencia de haces de colágeno con orientación menos uniforme o ausencia de zona de transición.
7. *Degeneración grasa*: ausencia o presencia de adipocitos.

Se estableció una escala general o “score” de hasta 4 puntos, cuantificando cada parámetro previamente descrito, donde se consideró que a mayor puntuación peor resultado. Luego el tejido normal (hombro contralateral al intervenido) puntúa 0 y el peor resultado suma 14 puntos (*tabla 3.2*).

PARÁMETRO EVALUADO	SCORE
<b>Matriz de colágeno</b>	
- Fibras de colágenos paralelas	0
- Fibras más difusas y con bucles	1
- Fibras irregulares	2
<b>Inflamación de la bursa</b>	
- No	0
- Si	1
- Infiltrado inflamatorio en el tendón	2
<b>Celularidad</b>	
- Células alargadas	0
- Células redondeadas	1
- Aumento de células	2
<b>Metaplasia condroide</b>	
- Presencia normal de condrocitos	0
- Ausencia	1
- Aumento	2
<b>Vascularización</b>	
- Arteriolas paralelas a las fibras de colágeno	0
- Aumento de vasos	1
- Vasos perpendiculares a las fibras de aspecto nodular	2
<b>Transición osteotendinosa</b>	
- Apariencia de zonas naturales en la transición	0
- Transición bastante organizada, no del todo normal	1
- Zonas con lagunas en la zona de transición	2
- Ausencia de transición	3
<b>Degeneración grasa</b>	
- Ausencia de adipocitos	0
- Presencia de adipocitos	1

*Tabla 3.2: Parámetros y puntaje de la escala general del estudio histológico.*

### 3.9 Estudio biomecánico

El estudio biomecánico se llevó a cabo por el Departamento de Ciencia de Materiales de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos; Universidad Politécnica de Madrid.

Para la preparación de la muestra escapulohumeral ( $n=5$  de cada grupo) para el ensayo biomecánico se empleó suero salino fisiológico, tubos de PVC (10 mm de diámetro interior para húmero y 20 mm para escápula), film de plástico (LDPE) y papel de aluminio, gomas elásticas pequeñas, cianocrilato además de resina epoxy de polimerización lenta (Araldite Standard ®).

La realización del estudio biomecánico se realizó con una máquina de tracción Instron® modelo 4411 utilizándose como software de control el PCD 2K (*figura 3.28*).



***Figura 3.28:*** Máquina de tracción tipo Instron modelo 4411.



Tras la extracción, las piezas escapulohumerales se congelaron y mantuvieron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la realización del estudio.

El día antes se procedió a la descongelación de las muestras a temperatura ambiente. Primero se determinó el tamaño de los tubos donde se iban a introducir las muestras en función del tamaño de las mismas (*figura 3.29*).



***Figura 3.29:*** Extremidad descongelada determinando longitud del tubo.

Una vez cortado el segmento de tubo necesario, uno de los extremos se ocluyó con papel de aluminio y cianocrilato para evitar el escape de la resina cuando se procedió al relleno del tubo con la misma. Posteriormente se colocó una lámina de film de polietileno de baja densidad (LDPE) en cada lado de la articulación con el fin de aislar lo máximo posible dicha zona de las otras partes de la extremidad (*figura 3.30*).



***Figura 3.30:*** Láminas de polietileno de baja densidad (LDPE) a cada lado de la articulación.

Una vez colocadas las láminas, con ayuda de las pinzas se envolvió el húmero y escápula con una goma elástica para aumentar la superficie de contacto con la resina y proporcionar una mayor sujeción de los tejidos depositando además de unas gotas de cianocrilato sobre ellas (figura 3.31).



***Figura 3.31:*** Gomas envolviendo la escápula y el húmero.

Así mismo, sobre las zonas musculares se depositaron también unas gotas de cianocrilato para crear una película sobre el tejido, de tal manera que la adherencia con la resina fuese mayor.

La muestra se sujetó con pinzas de papel para dejarla inmóvil hasta que el pegamento se secase ya que era de gran importancia que el cianocrilato no traspasase el film para depositarse en la zona de la articulación (*figura 3.32*).



***Figura 3.32:*** Secado de muestra escapulohumeral tras aplicar cianocrilato.

Posteriormente se embebió el húmero en la resina preservando el ángulo de 90° del tendón hasta el límite impuesto por el film, aprovechándolo como tapa para que no rebosase la resina (*figura 3.33*).



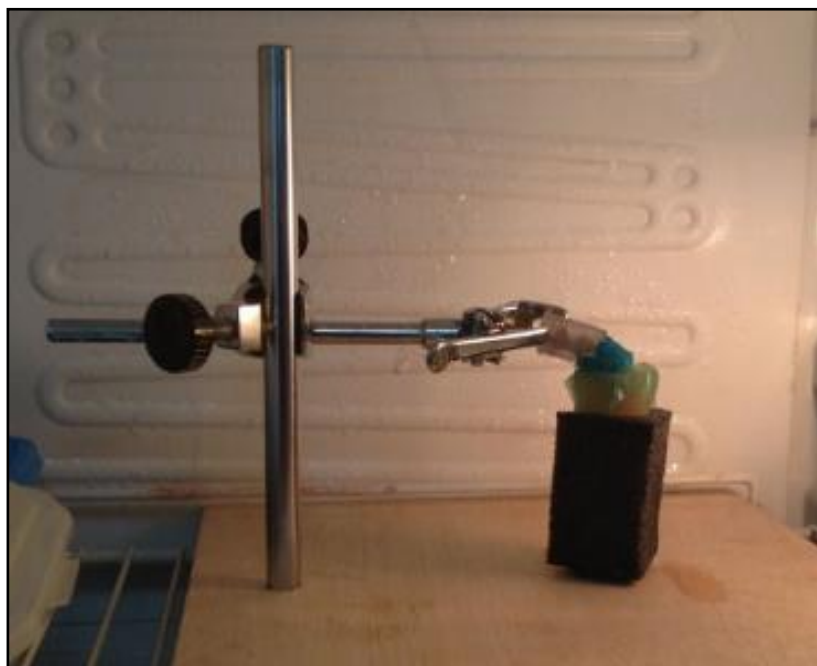
**Figura 3.33:** *Tubo relleno con resina con aluminio pegado en un extremo con cianocrilato.*

A continuación se procedió de la misma manera con la escápula, que se embebe en otro tubo con la misma resina (*figura 3.34*).



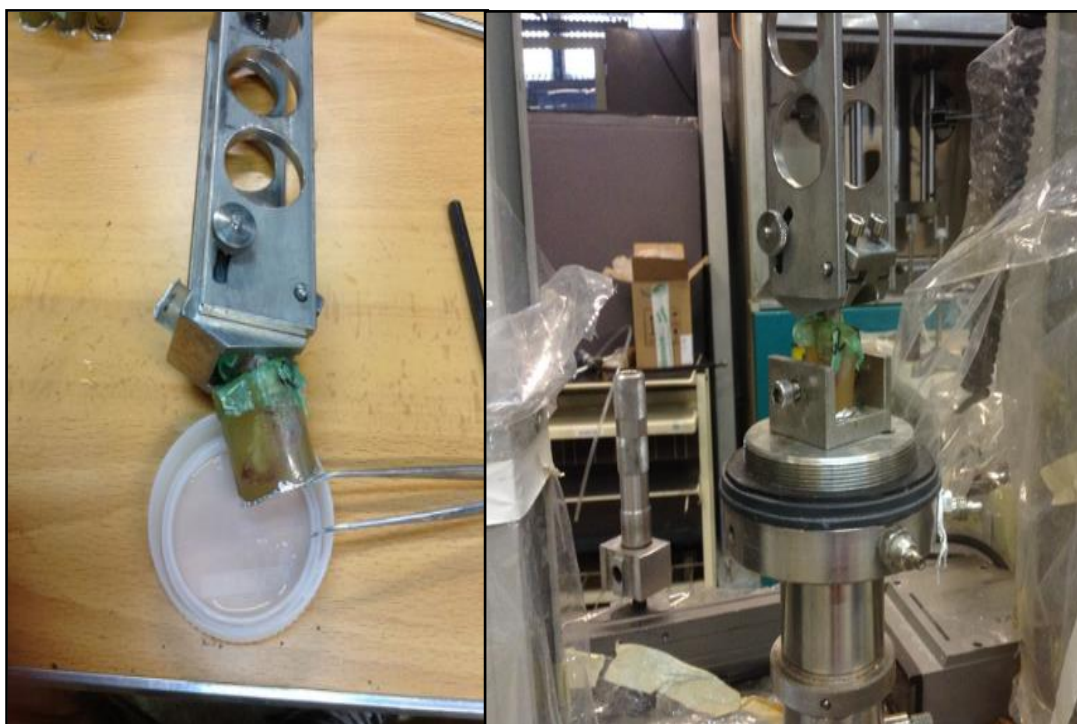
**Figura 3.34:** *Húmero y escápulas embutidos en resina.*

Tras unas 3-4 horas la resina adquirió una consistencia lo suficientemente sólida como para poder meter la muestra en la nevera a +4°C para finalizar el proceso de polimerización en un ambiente húmedo hasta proceder, al día siguiente, a la realización del estudio biomecánico (*figura 3.35*).



***Figura 3.35:*** Muestra en nevera con gasa húmeda protegiendo el tendón supraespinoso.

Tras dejar la muestra a temperatura ambiente durante una hora, se aplicaron las mordazas de la máquina de tracción. En primer lugar se acopló el húmero a la maquinaria y con ayuda del software del ordenador se movió hacia abajo con el motor hasta que la escápula se aproximase a la mordaza inferior (*figura 3.36*). El ensayo se realizó mediante tracción uniaxial imponiendo un desplazamiento constante (+0.031 mm/s) hasta llevar a la rotura del tendón del supraespinoso. Para registrar la fuerza se empleó una célula de carga de 5kN.



***Figura 3.36: Acoplamiento de la muestra con la Instron.***

Previo a su empleo en nuestro estudio, el diseño biomecánico se testó en piezas escapulohumerales no intervenidas (hombro contralateral al intervenido). Durante este procedimiento se observó con gran frecuencia la presencia de una fractura de la extremidad proximal del húmero previa a la rotura del tendón. Para solventar esta incidencia, y tras comentarla con veterinarios e ingenieros, se decidió proceder a la realización de un enclavado endomedular profiláctico mediante una aguja de Kirschner de 1 mm de diámetro (*figura 3.37*). Ésta se introdujo de forma anterógrada escogiendo, como punto de inserción, la zona de la cabeza humeral que se encontraba posterior al tendón supraespinoso.



**Figura 3.37:** *Enclavado endomedular con aguja tipo Kirschner.*

Tras la realización de este procedimiento se repitió el diseño del estudio biomecánico como ha sido explicado anteriormente, objetivándose la desaparición de dicha incidencia.

De esta manera, dicho gesto fue añadido en todas las muestras antes de la realización del estudio biomecánico.

El registro de la célula de carga nos permitía obtener los valores de fuerza (N) en función del desplazamiento (mm) realizado mediante la curva Fuerza-Desplazamiento (*figura 3.38*). A

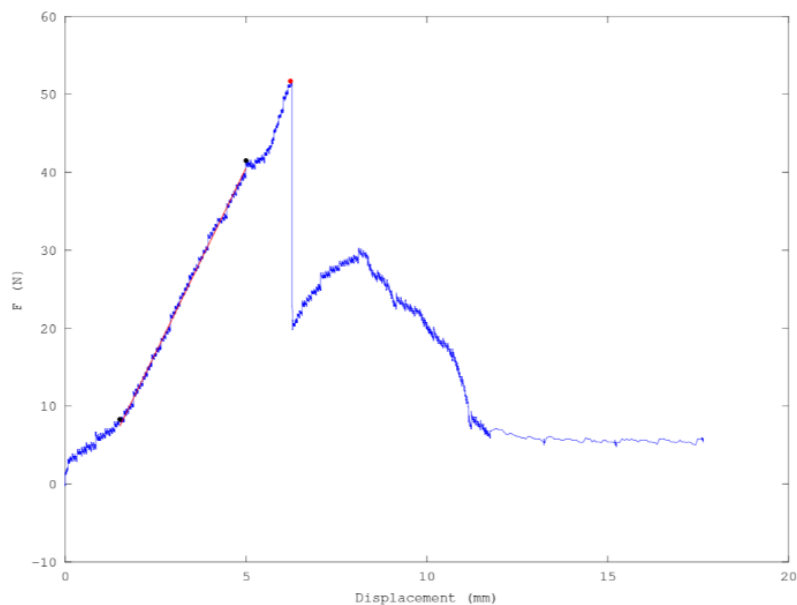


través del software específico Octave se analizaron estos datos para así obtener dos parámetros mecánicos: la carga máxima ( $R_{max}$ ) y la rigidez que se mide a través de la constante elástica ( $k$ ).

La definición de estos valores son:

La carga máxima se define como el valor máximo de carga necesario expresado en Newton para producir la rotura del tendón supraespinoso de forma permanente.

La constante elástica es una estimación y se define como la pendiente de la carga máxima dividida por el desplazamiento del tendón en el punto de rotura. Luego cuanto menor valor de constante elástica menos rígida y por lo tanto, más elástico.



**Figura 3.38:** Curva Fuerza-Desplazamiento donde el punto rojo indica la carga máxima que aguanta el tendón supraespinoso y la pendiente de la línea roja se corresponde con la constante elástica.



### 3.10 Estudio estadístico

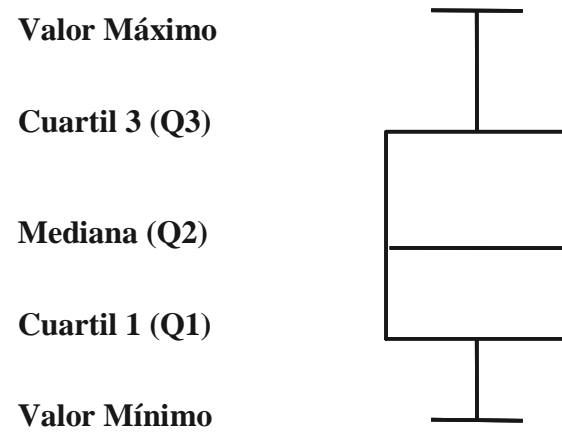
Durante el diseño del estudio se realizó un cálculo del poder estadístico empleando datos publicados previamente que detectaran diferencias de al menos un 25% en la carga necesaria hasta el fracaso o fallo de la reparación. De esta manera se determinó que eran precisos 5 especímenes por grupo para el estudio biomecánico lo que proporcionaría una potencia estadística cercana al 80% con un error Tipo I de 0,05.

El análisis de datos se inició con un estudio de la normalidad de las distribuciones comprobando así, que no cumplía los requisitos de una distribución normal. Posteriormente, teniendo en cuenta las características y los datos obtenidos del estudio de la normalidad, se realizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para la comparación intergrupar de 3 o más grupos.

La prueba U de Mann-Whitney, una prueba no paramétrica, se aplicó al comparar dos muestras independientes.

Los valores de  $p < 0,05$  se consideraron significativos.

Las tablas utilizadas vienen representadas por la Mediana y el Rango Intercuartílico (RI). Las gráficas utilizadas son diagramas de cajas donde se representan la mediana, el rango intercuartílico y los valores máximos y mínimos de la distribución para observar las diferencias entre grupos (*figura 3.39*).



**Figura 3.39:** Esquema de un diagrama de caja donde están representados los parámetros que se describen.

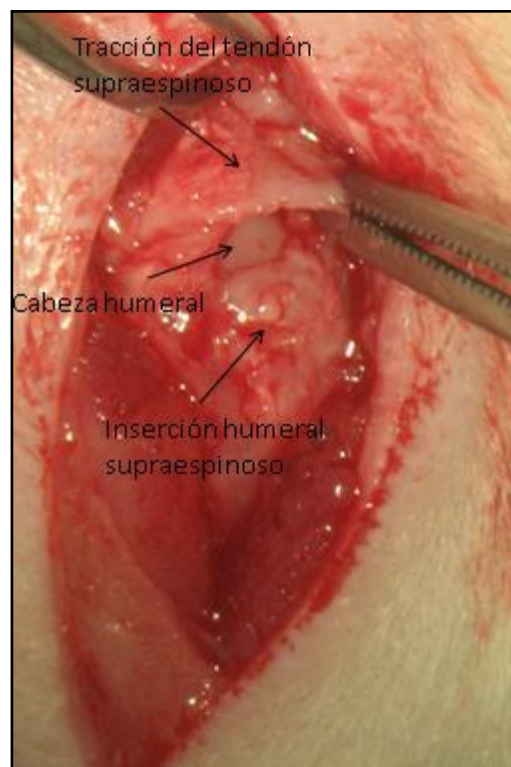
# IV. RESULTADOS

---

## 4.1 Aspecto macroscópico

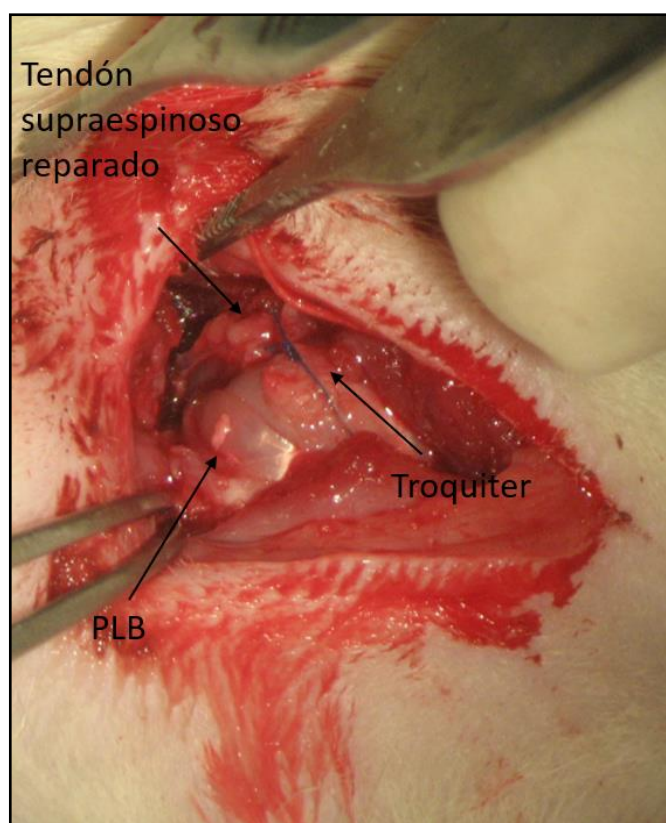
### 4.1.1 Fase I: Modelo de Lesión crónica

En el momento de la reparación tendinosa se comprobó la presencia de un espacio osteotendinoso en todos los casos y la ausencia de tejido de reparación; confirmándose así la existencia de una lesión crónica (*figura 4.1*).



**Figura 4.1:** Aposición del tendón supraespinoso hacia su inserción en el troquíter tras la disección.

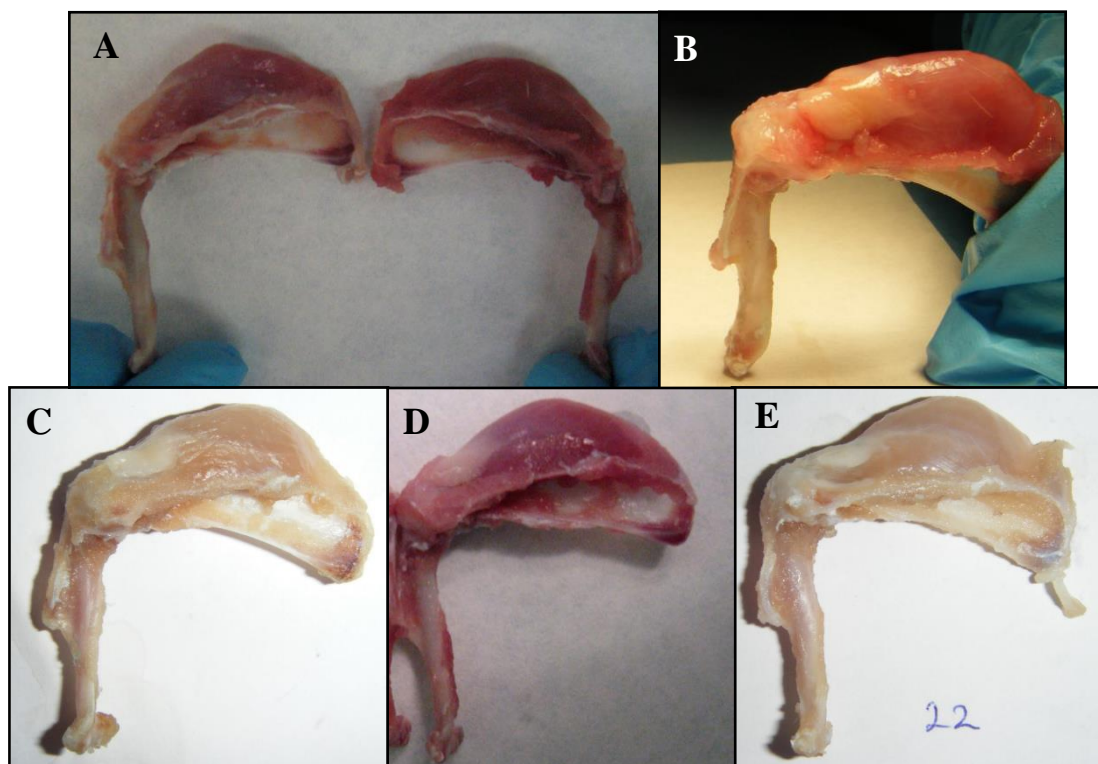
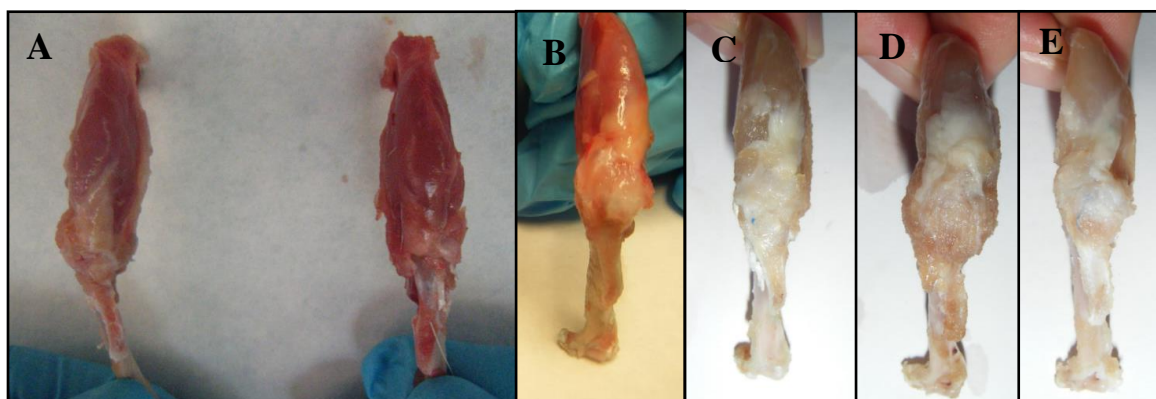
La reinserción tendinosa se pudo realizar en todos los casos en el troquíter, pero en cinco casos dicha reinserción se encontraba a tensión debido a la presencia de una importante retracción tendinosa (*figura 4.2*). De estos cinco animales, 2 pertenecieron al grupo *Sutura*, 2 a Control Alginato y 1 al grupo Control Quitina.



***Figura 4.2: Sutura a tensión.***

#### **4.1.2 Fase II: Reparación y eutanasia**

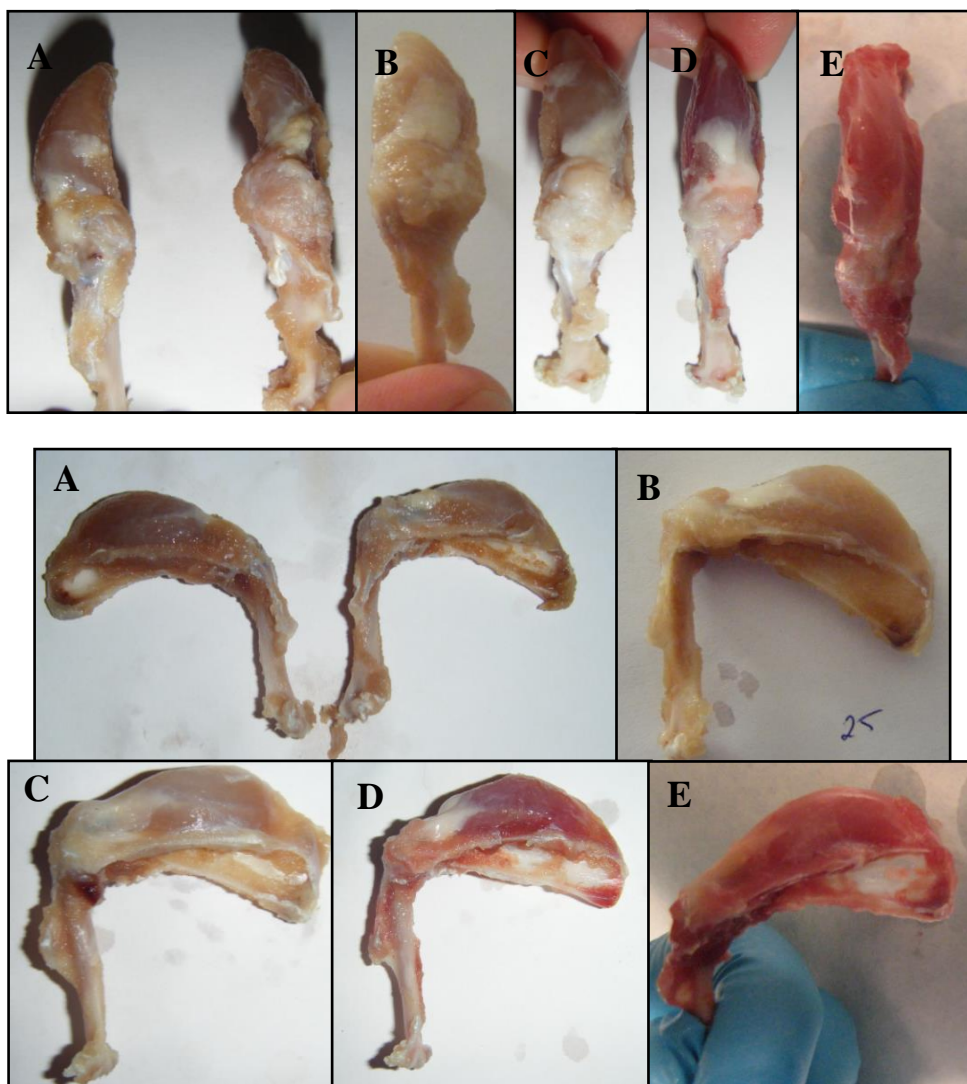
**4.1.2.1** El aspecto macroscópico que presentaron las piezas *Sutura* fue el siguiente (*figura 4.3 y 4.4*):



**Figura 4.3 y 4.4:** Imágenes macroscópicas de hombros del grupo Sutura donde se observan las mismas 5 piezas en 2 proyecciones diferentes. A) a la derecha hombro no intervenido que sirve como control y a la izquierda hombro intervenido de buen aspecto. B) calcificación peritendinosa y vientre muscular de buen aspecto. C) atrofia del vientre supraespinoso. D) buen aspecto. E) calcificación y atrofia muscular.

En el 40% de las piezas se observó una atrofia muscular. Encontramos un 20% de rerroturas (2 casos) en este grupo y la mitad de los casos presentaron un aspecto similar al de un hombro sano. No se evidenciaron signos macroscópicos de procesos infecciosos.

**4.1.2.2** El aspecto macroscópico que presentaron las piezas *Doble Control* fue el siguiente (figura 4.5 y 4.6):

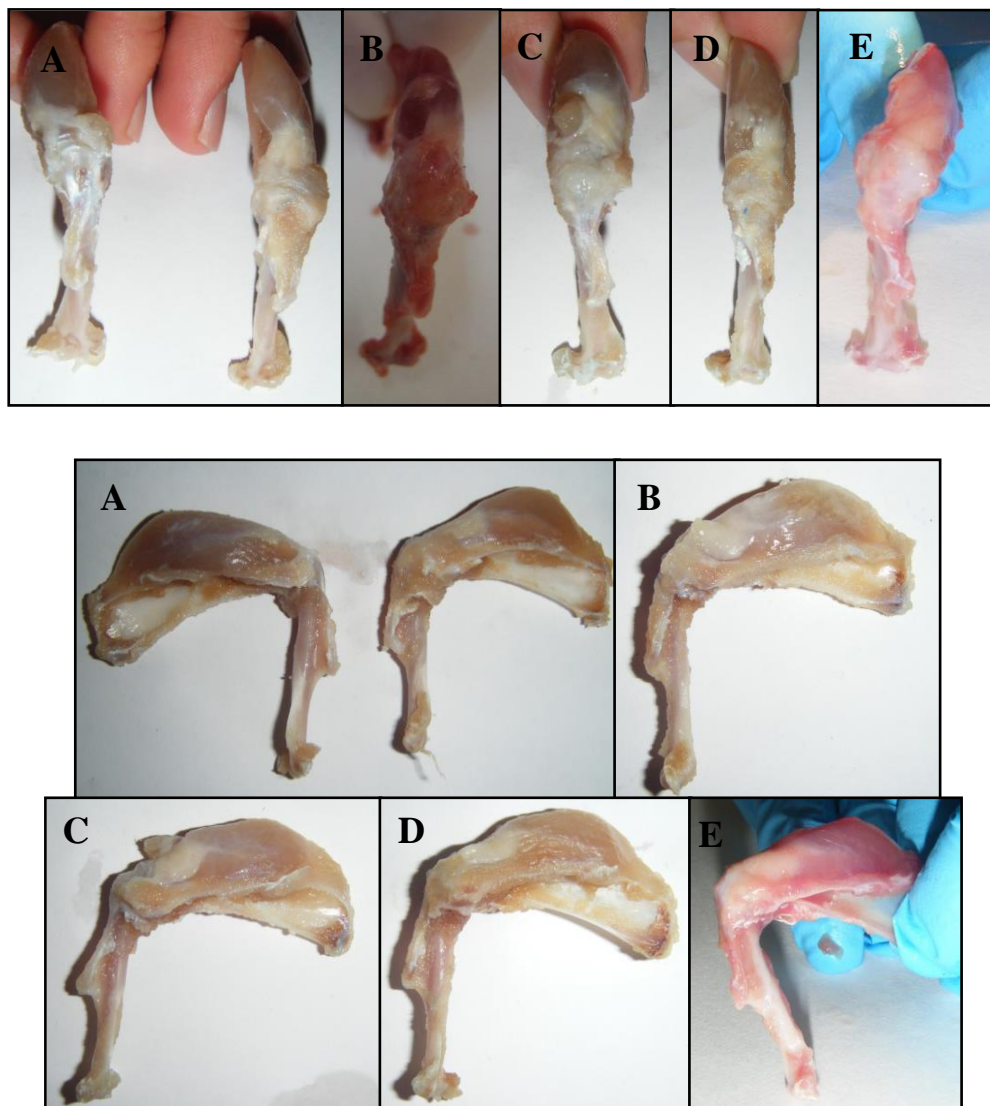


**Figura 4.5 y 4.6:** Imágenes macroscópicas de hombros del grupo *Doble Control*. A) a la izquierda hombro no intervenido que sirve como control y a la derecha hombro intervenido donde se observa cierta atrofia muscular. B y C) calcificación peritendinosa. D) atrofia del vientre muscular del supraespinoso. E) buen aspecto.

No encontramos casos de rerrotura tendinosa en este grupo. Macroscópicamente no se observó inflamación en los hombros reparados aunque casi la mitad de los casos (40%) tenían cierto grado de atrofia muscular.



**4.1.2.3** El aspecto macroscópico que presentaron las piezas *Control Alginato* fue el siguiente (figura 4.7 y 4.8):

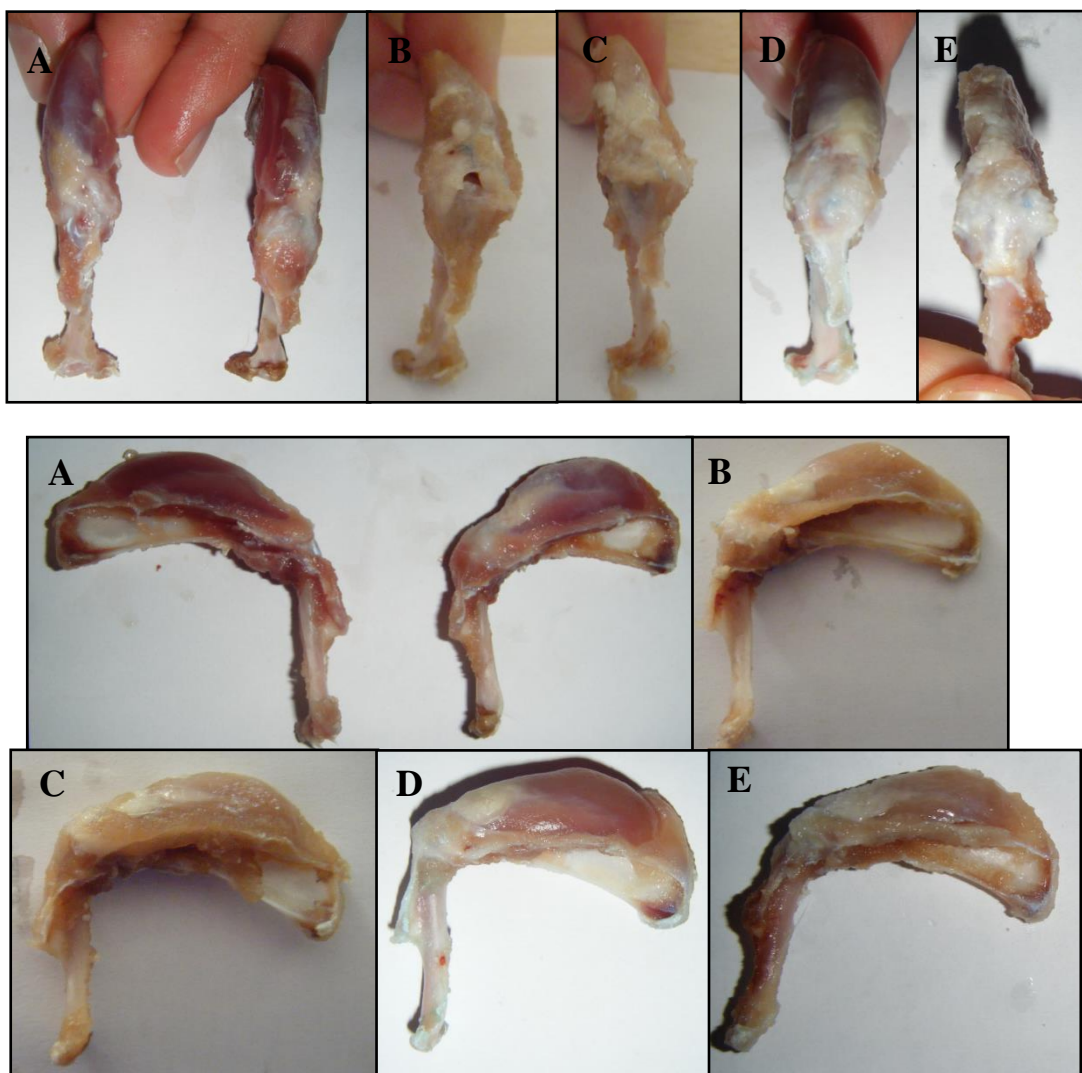


**Figura 4.7 y 4.8:** Imágenes macroscópicas de hombros del grupo Control Alginato. A) a la izquierda hombro no intervenido que sirve como control y a la derecha hombro intervenido donde se observa cierta atrofia muscular. B y C) calcificación peritendinosa. D) atrofia muscular del supraespinoso. E) buen aspecto.

Encontramos un 20% de rerroturas en este grupo, en tres piezas (30%) se observó una atrofia muscular. No se evidenciaron signos macroscópicos de procesos infecciosos o inflamatorios en ningún hombro de este grupo. El 60% tenían un aspecto similar al de un hombro normal.



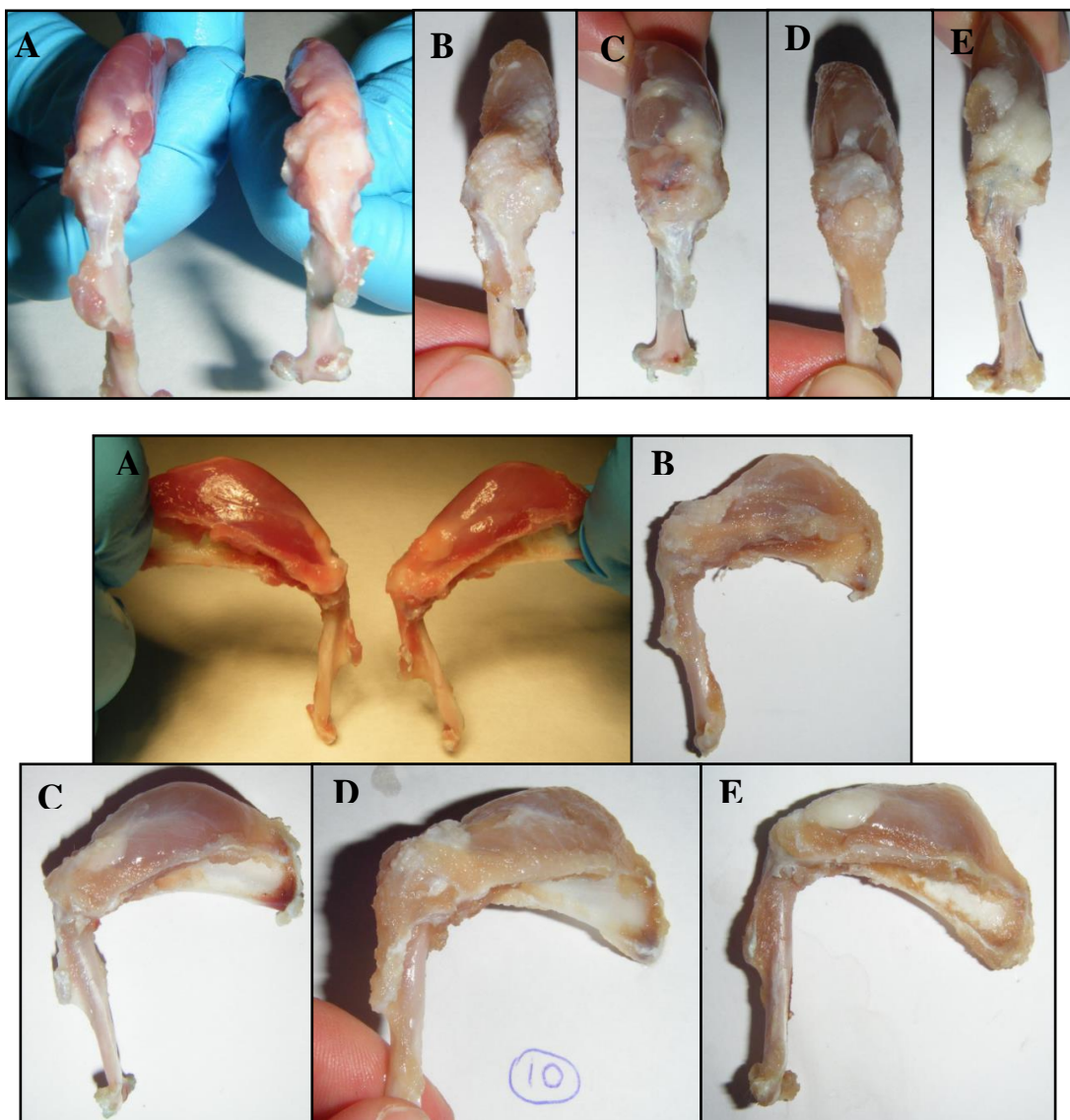
4.1.2.4 El aspecto macroscópico que presentaron las piezas *Control Quitina* fue el siguiente (figuras 4.9 y 4.10):



**Figura 4.9 y 4.10:** Imágenes macroscópicas de hombros del grupo *Control Quitina*. A) a la izquierda hombro no intervenido que sirve como control y a la derecha hombro intervenido con buen aspecto. B) rerrotura del tendón supraespinoso. C) buen aspecto. D) calcificación peritendinosa. E) calcificación y atrofia muscular del supraespinoso.

Encontramos un 10% de rerroturas en este grupo, en dos piezas (20%) se observó evidente atrofia muscular con menor relleno de la fosa supraespinosa. No se evidenciaron signos macroscópicos de procesos infecciosos o inflamatorios en ningún caso.

**4.1.2.5** El aspecto macroscópico que presentaron las piezas *Doble Muestra* fue el siguiente (figuras 4.11 y 4.12):



**Figura 4.11 y 4.12:** Imágenes macroscópicas de hombros del grupo *Doble Muestra*. A) a la izquierda hombro no intervenido que sirve como control y a la derecha hombro intervenido con buen aspecto. B) calcificación peritendinosa. C) buen aspecto. D) calcificación peritendinosa. E) buen aspecto.

En este grupo no existieron casos de rerrotura. Tan sólo en dos piezas se evidenció cierto grado de atrofia muscular, presentando el 60% de los casos buen aspecto macroscópico.

En todos los grupos encontramos especímenes con cierto grado de atrofia sin evidenciar diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos ( $p>0,05$  al realizar el estudio comparativo entre todos los grupos).

Se observaron un 10% de rerroturas en total, agrupando todas las piezas, de ellas un 10% se encontraron en el grupo Control Quitina, un 20% en el grupo Control Alginato y un 20% en el grupo Sutura. Todos los casos de rerrotura coincidieron con los casos de sutura a tensión registrados en la Fase I.

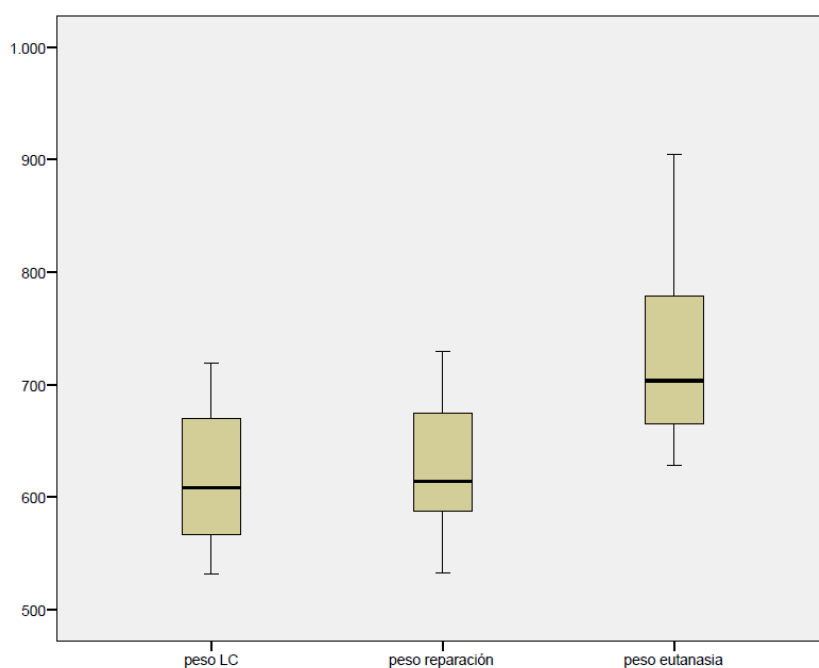
En la Tabla 4.1 se resumen los resultados del análisis macroscópico.

	Rotura tendinosa	Atrofia muscular	Calcificación	Buen aspecto
<b>Sutura</b>	20%	40%	20%	50%
<b>Doble Control</b>	0%	40%	20%	60%
<b>Control Alginato</b>	20%	30%	20%	60%
<b>Control Quitina</b>	10%	20%	20%	60%
<b>Doble Muestra</b>	0%	20%	30%	60%

**Tabla 4.1:** Resultados macroscópicos según los grupos.

### 4.1.3 Peso

Con el fin de evaluar el bienestar del animal se pesó a cada uno en el momento de la sección tendinosa, de la reparación y de la eutanasia, ya que si un animal sufre pierde peso (*figura 4.13*).



**Figura 4.13:** Diagrama de cajas del peso en el momento de la sección tendinosa (*peso LC*), *reparación (peso reparación)* y la eutanasia (*peso eutanasia*).

En la tabla 4.2 se refleja el análisis descriptivo de dichos valores y podemos observar como el peso de las ratas aumenta de la primera a la segunda cirugía y de la segunda cirugía al momento de la eutanasia.

	Sección tendinosa	Reparación	Eutanasia
<b>Media</b>	607,43	617,54	742,00
<b>Mediana</b>	595,00	608,00	724,00
<b>Desviación típica</b>	55,30	58,51	86,76
<b>Mínimo</b>	532	533	628
<b>Máximo</b>	714	720	905
<b>Percentiles</b>			
<b>-25</b>	565,00	565,50	668,00
<b>50</b>	595,00	608,00	724,00
<b>75</b>	656,00	670,25	819,00

**Tabla 4.2:** *Peso en gramos de las ratas en el momento de la sección tendinosa, la reparación y la eutanasia en gramos.*

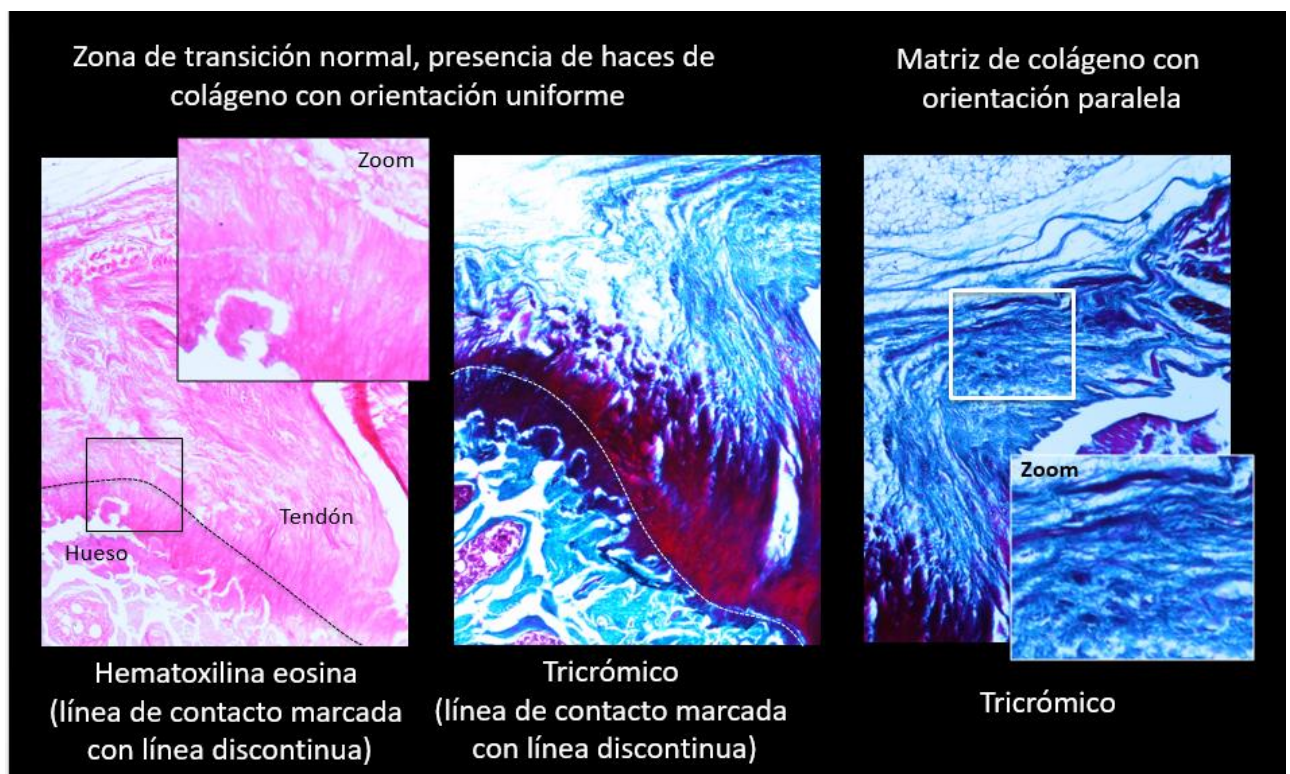
Se evaluó la diferencia del aumento del peso entre los 5 grupos mediante un test tipo Kruskal-Wallis sin poder observarse una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,69$ ).

## 4.2 Resultados histológicos

Todas las piezas fueron evaluadas por dos investigadores que no tenían conocimiento previo del material utilizado en la reparación del tendón, según la escala escrita con anterioridad en el apartado de material y método. Recordemos que el valor del tejido ideal sería 0 y el tejido con peor calidad desde el punto de vista histológico alcanzaría los 14 puntos.



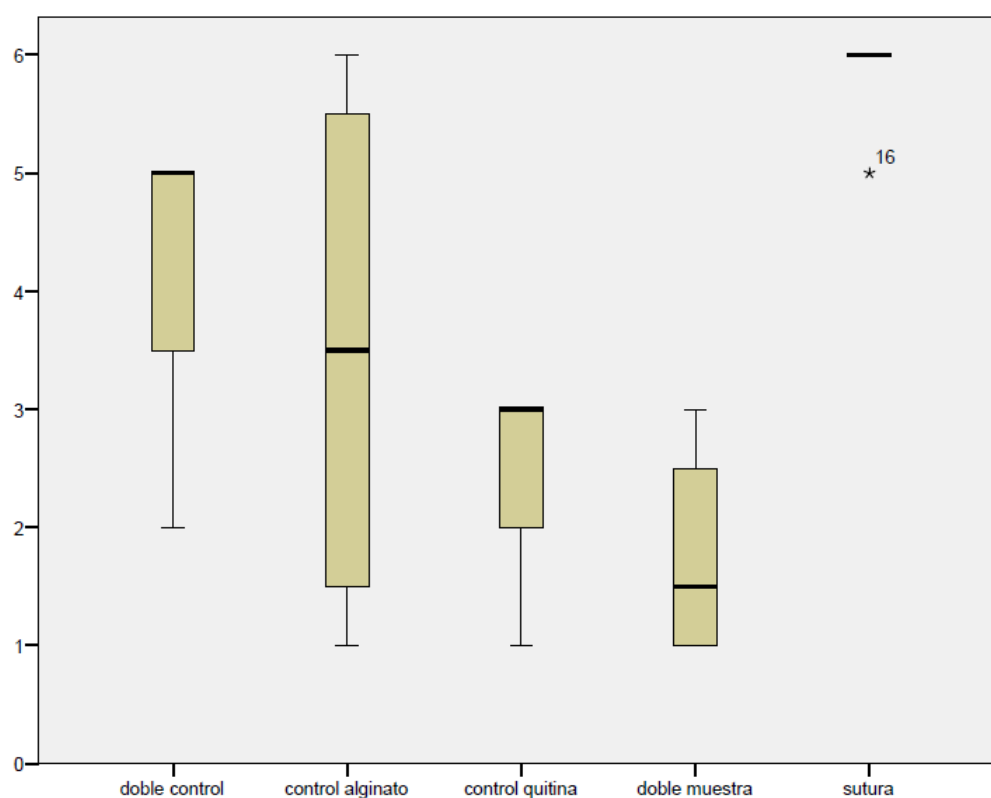
Los hombros intervenidos, independiente del grupo al que perteneciesen, no alcanzaron en ningún caso una puntuación en la escala de valoración histológica de cero, es decir, ninguno de los hombros intervenidos tenían un aspecto histológico similar al de un tendón sano. A pesar de obtener ciertos parámetros de aspecto normal como una zona de transición de aspecto normal o una buena orientación de las fibras de colágeno en algunos casos, otros parámetros se alejaron del aspecto de un tendón sano. El aspecto histológico obtenido de los tendones no intervenidos (sin lesión tendinosa) es el que se muestra en la figura 4.14 donde se aprecia un entramado natural de la zona de transición, fibras de colágeno paralelas y tenocitos alargados, ausencia de degeneración grasa o metaplasia condroide y una vascularización adecuada (*figura 4.14*).



**Figura 4.14:** Corte coronal de hombro no intervenido teñido con Hematoxilina Eosina y Tricrómico de Masson 10X.

### 4.2.1 Score total

Se obtuvieron los resultados que se muestran en la figura 4.15. La mayor puntuación, sumando la puntuación individual de todas las muestras por grupo, y por lo tanto el peor resultado con un aspecto histológico del tendón más alejado de lo normal, la obtuvo el grupo Sutura (total 26) seguido de Doble Control (15), Control Alginato (15) y Control Quitina (11). El grupo Doble Muestra obtuvo los mejores resultados con un total de 8 puntos.



**Figura 4.15:** Diagrama de cajas de la escala general histológica de hombros según grupos.

Podemos observar como los valores más parecidos a los de un tendón normal se pueden observar en los grupos donde se aplicó el transportador mientras que el grupo Sutura se aleja más de las características del tendón nativo. Se realizó un estudio con un test estadístico tipo U Mann-Whitney comparando, de forma emparejada, los resultados de todos los grupos entre sí (*tabla 4.3*).

	<b>Sutura</b>	<b>Doble Control</b>	<b>Control Alginato</b>	<b>Control Quitina</b>	<b>Doble Muestra</b>
<b>Sutura</b>		0,034	0,080	0,009	0,010
<b>Doble Control</b>			0,853	0,266	0,102
<b>Control Alginato</b>				0,655	0,297
<b>Control Quitina</b>					0,268
<b>Doble Muestra</b>					

**Tabla 4.3:** Valores p al comparar la escala general de todos los grupos del estudio mediante la prueba U Mann-Whitney. Los valores en rojo muestran las diferencias estadísticamente significativas. Por lo tanto, Doble Control, Control Quitina y Doble Muestra presentaron mejores resultados estadísticamente significativos comparados con Sutura.



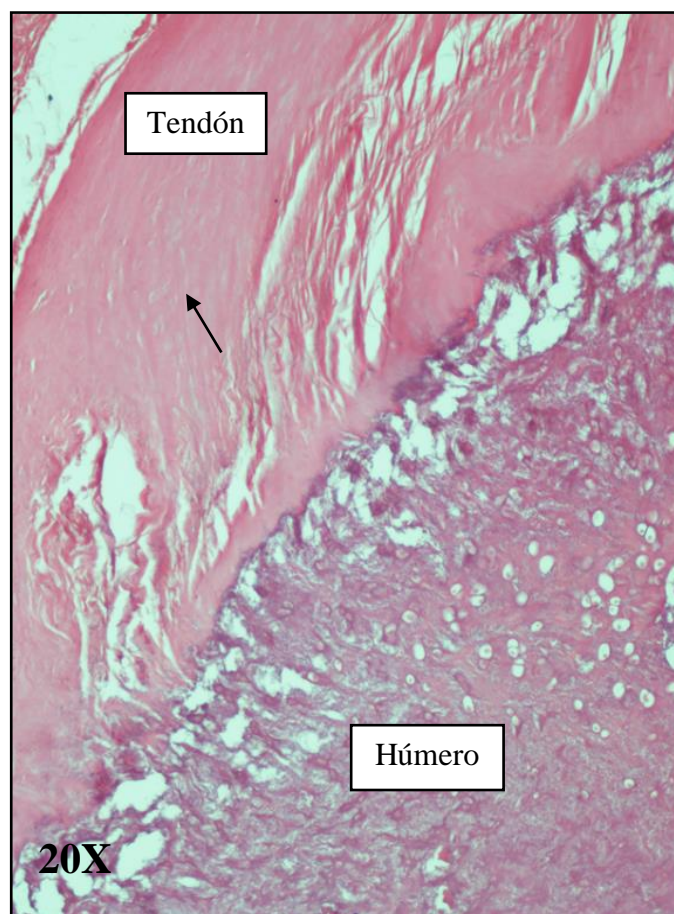
### 4.2.2 Matriz de colágeno

En la tabla 4.4 se recoge la puntuación total obtenida en la evaluación de las características de la matriz mediante la escala empleada.

Puntuación	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
0	0%	60%	60%	100%	100%
1	40%	40%	20%	0%	0%
2	60%	0%	20%	0%	0%
Suma de puntuación	8*	2	3	0	0

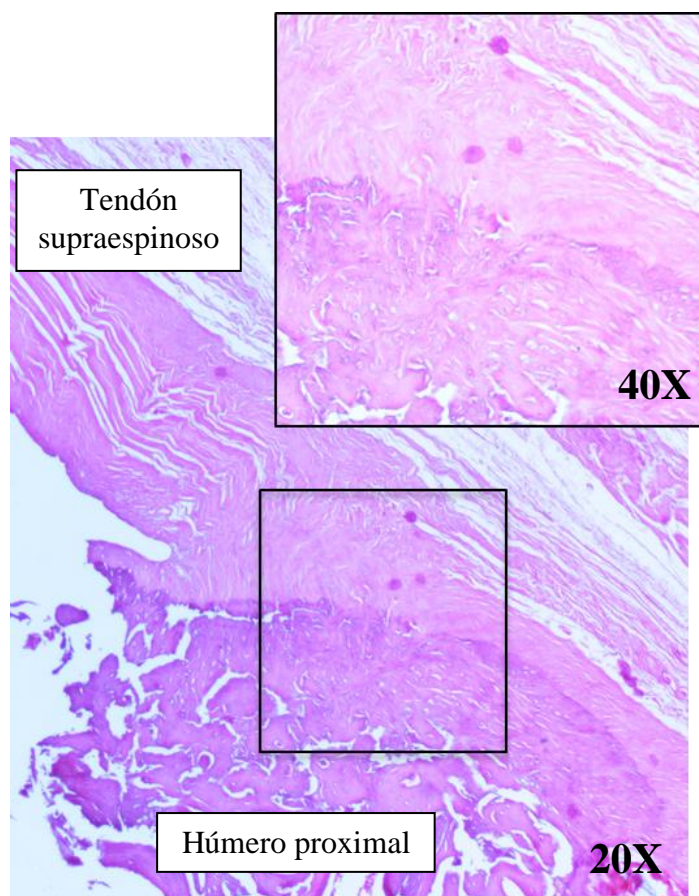
**Tabla 4.4:** Puntuación de la matriz de colágeno por grupos de estudio. Los valores expresados son el porcentaje de las muestras de un grupo además de la suma de las puntuaciones de cada grupo. La mayor puntuación (\*) y por lo tanto el peor resultado se observó en el grupo Sutura seguido por Control Alginato, Doble Control y finalmente, con el mejor resultado, Control Quitina y Doble Muestra.

Al analizar los parámetros de forma aislada se pudo observar, en relación a la matriz y su organización de las fibras de colágeno, como éstas mantenían una organización paralela, parecida a la de un tendón normal, en los grupos Doble Muestra y Control Quitina (figura 4.16).



**Figura 4.16:** Grupo Doble Muestra. Tinción Hematoxilina Eosina 20X. Se observa como las fibras de colágeno (flecha negra) mantienen una orientación paralela y ondulada.

En el grupo Control Alginato y Doble Control algunas muestras mostraron fibras de colágeno más difusas o incluso con bucles mientras que, en el grupo Sutura, algunos casos mostraron una gran desorganización en el interior de la matriz de colágeno, con zonas donde no se visualizaba el entramado propio de la inserción tendinosa (figura 4.17).



**Figura 4.17:** Grupo Control Quitina. Tinción Hematoxilina Eosina 20X y 40X. Se puede observar fibras de colágeno con una distribución más difusa e incluso con bucles.

Luego podemos observar como todas las muestras con transportador presentaban una mejor organización de las fibras de colágeno en relación a la muestra de la sutura aislada. Tras realizar un análisis emparejado con el test U Mann-Whitney estas diferencias fueron significativas al comparar Sutura con Doble Control, Control Quitina y Doble Muestra (tabla 4.5).

	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Sutura		0,032	0,058	0,010	0,010
Doble Control			0,554	0,248	0,248
Control Alginato				0,131	0,131
Control Quitina					1,000
Doble Muestra					

**Tabla 4.5:** Valores *p* al comparar la puntuación de la matriz de todos los grupos del estudio mediante la prueba *U* Mann-Whitney. Los valores en rojo muestran las diferencias estadísticamente significativas. Por lo tanto, Doble Control, Control Quitina y Doble Muestra presentaron mejores resultados estadísticamente significativos comparados con Sutura.

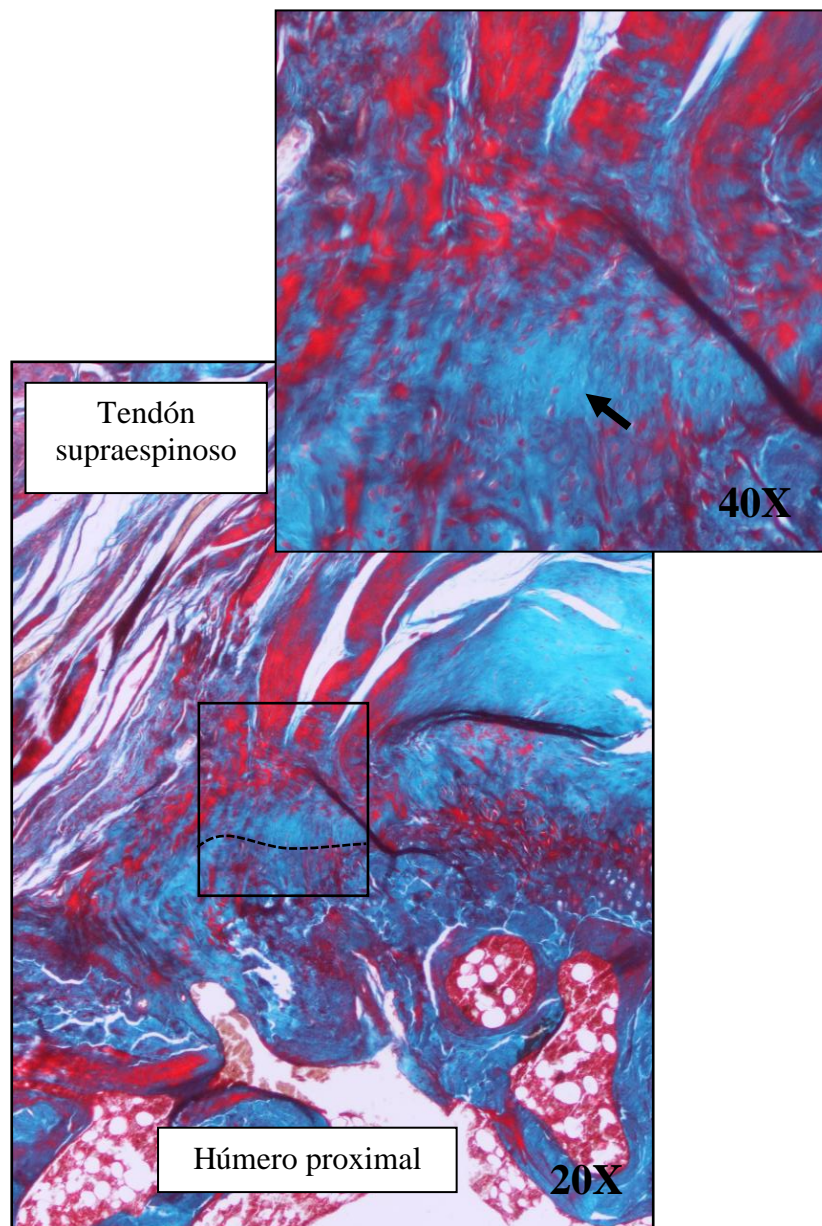
### 4.2.3 Zona de transición

Dentro del estudio histológico también se evaluó cual fue el estado de la zona de transición osteotendinosa, a fin de caracterizar la calidad de la reparación. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 4.6.

<b>Puntuación</b>	<b>Sutura</b>	<b>Doble Control</b>	<b>Control Alginato</b>	<b>Control Quitina</b>	<b>Doble Muestra</b>
<b>0</b>	80%	20%	60%	40%	60%
<b>1</b>	20%	40%	20%	20%	40%
<b>2</b>	0%	20%	0%	40%	0%
<b>3</b>	0%	0%	20%	0%	0%
<b>Suma de puntuación</b>	2	4	4	5*	2

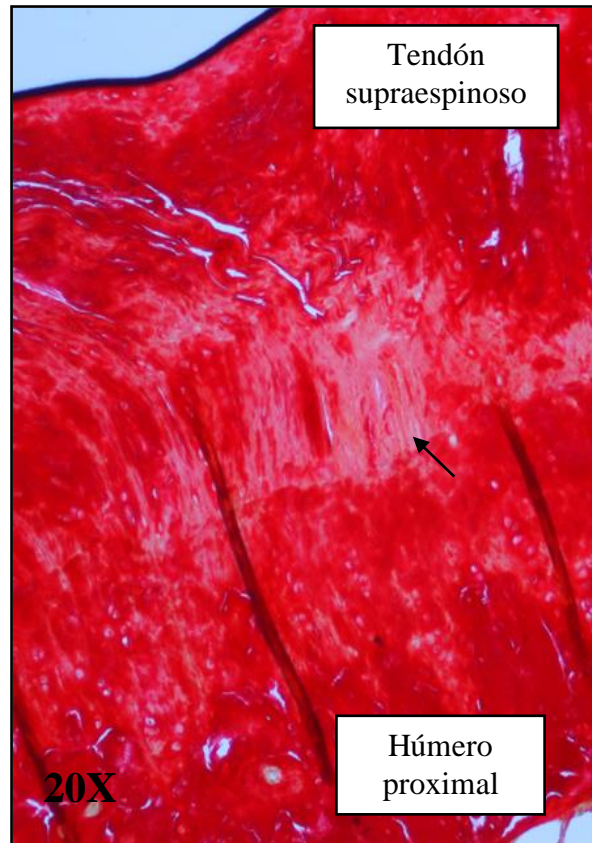
**Tabla 4.6:** Los valores expresados son el porcentaje de las muestras de un grupo y la suma de las puntuaciones de cada grupo al valorar el ítem de zona de transición. La mayor puntuación (\*) se observó en el grupo Control Quitina y los mejores resultados en los grupos Sutura y Doble Muestra (2 puntos).

Al comparar los resultados de la zona de transición se observaron mejores resultados, con una zona de transición más parecida a la de un tendón normal donde las fibras de colágeno del tendón continúan hacia el hueso, en el grupo de Sutura y Doble Muestra seguido por el grupo Doble Control y Control Alginato (figura 4.18 y 4.19).



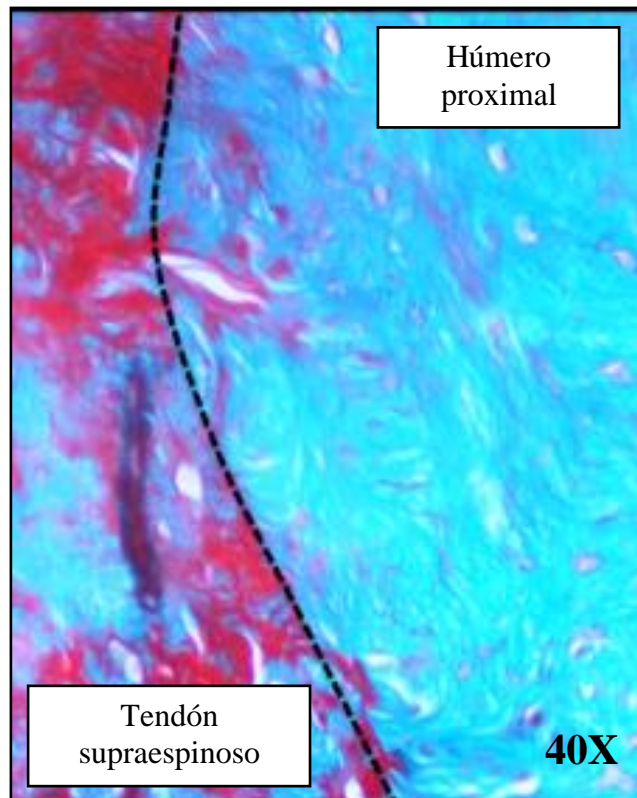
**Figura 4.18:** Grupo Control Alginato. Tricrómico de Masson 20X. En la zona de transición normal se observa cómo las fibras de colágeno del tendón se irradian hacia el interior del hueso (flecha negra). En la zona del tendón más cercana al hueso se observan condrocitos que producen una mineralización en la zona de fibrocartílago mineralizado.





**Figura 4.19:** Grupo Control Alginato. Tinción Rojo Sirio 20X. Se observa una zona de transición de aspecto normal (puntuación=0) con fibras de colágeno traspasando desde el tendón hasta el hueso (flecha negra).

El peor resultado con mayor puntaje lo obtuvo el grupo de Control Quitina donde se observaron lagunas en un 40% de las muestras (figura 4.20).



**Figura 4.20:** Grupo Control Quitina. Tinción Tricrómico de Masson 40X. Se observa una zona de transición con lagunas (color blanco) y colágeno desorganizado, puntuación=2.

Para comparar los resultados de los diferentes grupos en cuanto a la zona de transición se aplicó el test U Mann-Whitney donde no se pudieron detectar diferencias estadísticamente significativas (tabla 4.7).



	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Sutura		0,168	0,306	0,078	0,371
Doble Control			0,853	0,708	0,445
Control Alginato				0,653	0,752
Control Quitina					0,222
Doble Muestra					

**Tabla 4.7:** Valores p al comparar la puntuación de la zona de transición de todos los grupos del estudio mediante la prueba U Mann-Whitney.

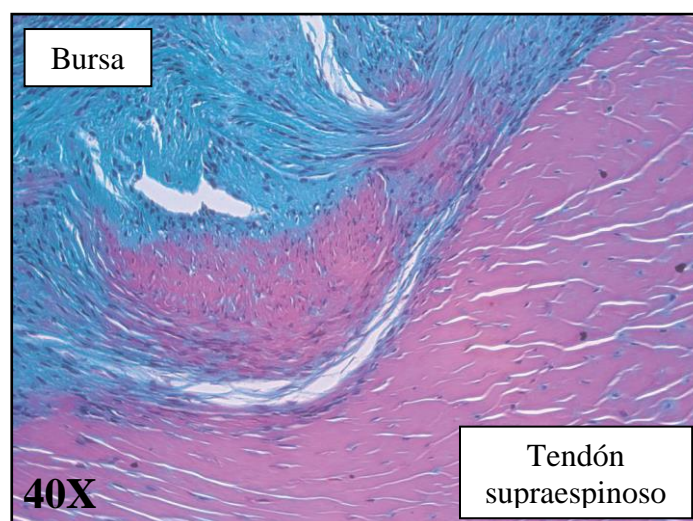
#### 4.2.4 Inflamación de la bursa

Al valorar el aspecto histológico de un tendón hay que tener en cuenta la posible reacción inflamatoria ya que en un tendón normal no se suelen apreciar células inflamatorias. En la tabla 4.8 se resumen los resultados obtenidos en la evaluación de este parámetro mediante la escala histológica empleada.

Puntuación	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
0	0%	100%	100%	100%	100%
1	100%	0%	0%	0%	0%
2	0%	0%	0%	0%	0%
Suma de puntuación	5*	0	0	0	0

**Tabla 4.8:** Los valores expresados son el porcentaje de las muestras de un grupo y la suma de las puntuaciones de cada grupo. La mayor puntuación (\*) se observó en el grupo Sutura mientras que todos los otros grupos obtuvieron una puntuación de 0 puntos.

Podemos observar que en aquellas muestras en las que se empleó el transportador se obtuvieron unos resultados similares, en cuanto a este parámetro, a los de un tendón normal. En cambio, en el grupo Sutura hallamos una respuesta inflamatoria limitada a la bursa sin poder detectarse infiltrado inflamatorio en el propio tejido tendinoso (*figura 4.21*).



**Figura 4.21:** Grupo Sutura. Tinción Hematoxilina Eosina 40X. Se observan abundantes células inflamatorias (azul oscuro) en la bursa pero no en el tejido tendinoso lo que equivaldría a una puntuación de 1.

Al analizar estos datos con el análisis tipo U Mann-Whitney se observó cómo, al comparar cada grupo con la Sutura los valores de p resultantes fueron  $p=0,008$  en Doble Control;  $p=0,005$  en Doble Muestra;  $p=0,005$  en Control Quitina y  $p=0,005$  en Control Alginato (*tabla 4.9*). Luego todos los grupos presentaron una menor inflamación de la bursa comparado con el grupo sólo Sutura, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Sutura		0,005	0,005	0,005	0,005
Doble Control			1,000	1,000	1,000
Control Alginato				1,000	1,000
Control Quitina					1,000
Doble Muestra					

**Tabla 4.9:** Valores p al comparar el ítem de inflamación de la bursa de forma emparejada de todos los grupos del estudio mediante la prueba U Mann-Whitney. Los valores en rojo muestran las diferencias estadísticamente significativas.

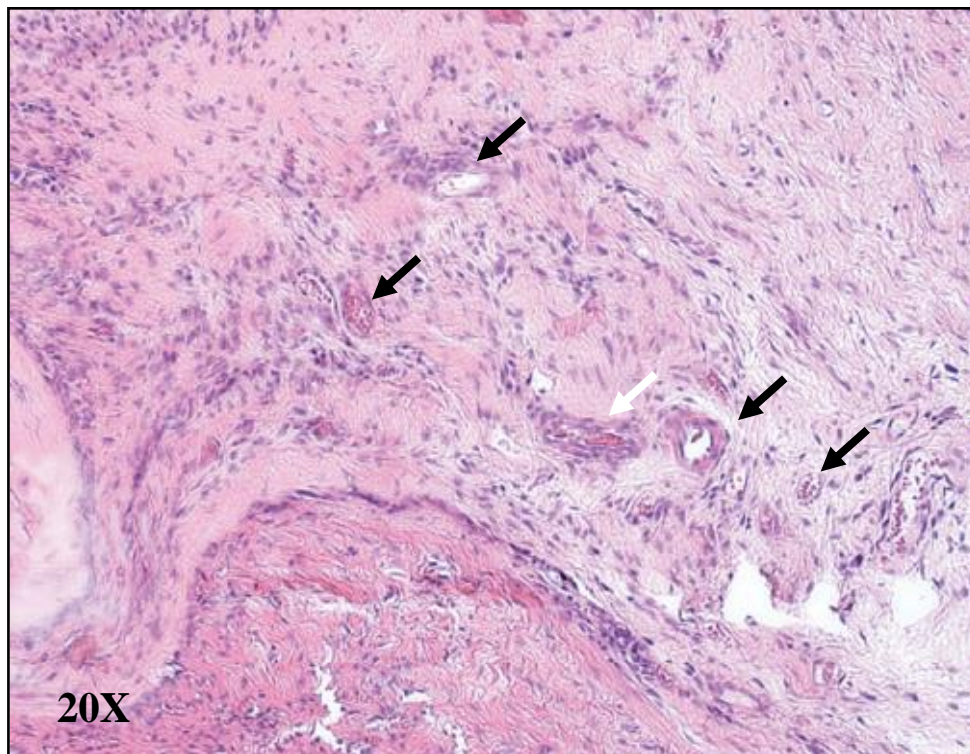
#### 4.2.5 Vascularización

Los resultados obtenidos por cada uno de los grupos en el ítem “vascularización” en la escala histológica de evaluación del tejido de reparación se resumen en la tabla 4.10.

Puntuación	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
0	20%	80%	80%	100%	100%
1	80%	0%	20%	0%	0%
2	0%	20%	0%	0%	0%
<b>Suma de puntuación</b>	4*	2	1	0	0

**Tabla 4.10:** Los valores expresados son el porcentaje de las muestras de un grupo y la suma de las puntuaciones de cada grupo. La mayor puntuación (\*) se observó en el grupo Sutura mientras que todos los grupos al los que se aplicó el transportador mostraron mejores resultados.

En los grupos Control Quitina y Doble Muestra se observó cómo las arteriolas mantenían su orientación paralela a las fibras de colágeno de forma similar a como se orientan en un tendón normal. En el grupo Control Alginato se observó alguna muestra con aumento de la vascularización mientras que ascendía hasta el 80% en el grupo Sutura. Un 20% de los casos de Doble Control mostraron vasos perpendiculares a las fibras o incluso vasos de aspecto nodular (figura 4.22).



**Figura 4.22:** Doble Control. Tinción de Hematoxilina Eosina X20. Se observa un aumento de la vascularización del tendón supraespinoso con varios vasos perpendiculares (flechas negras) y algún vaso paralelo a las fibras de colágeno (flecha blanca).

Realizando un test estadístico tipo U Mann-Whitney se detectó que la vascularización fue significativamente mejor al comparar los grupos Control Quitina y Doble Muestra con el grupo de sólo Sutura ( $p=0,024$  en ambos casos) (tabla 4.11).

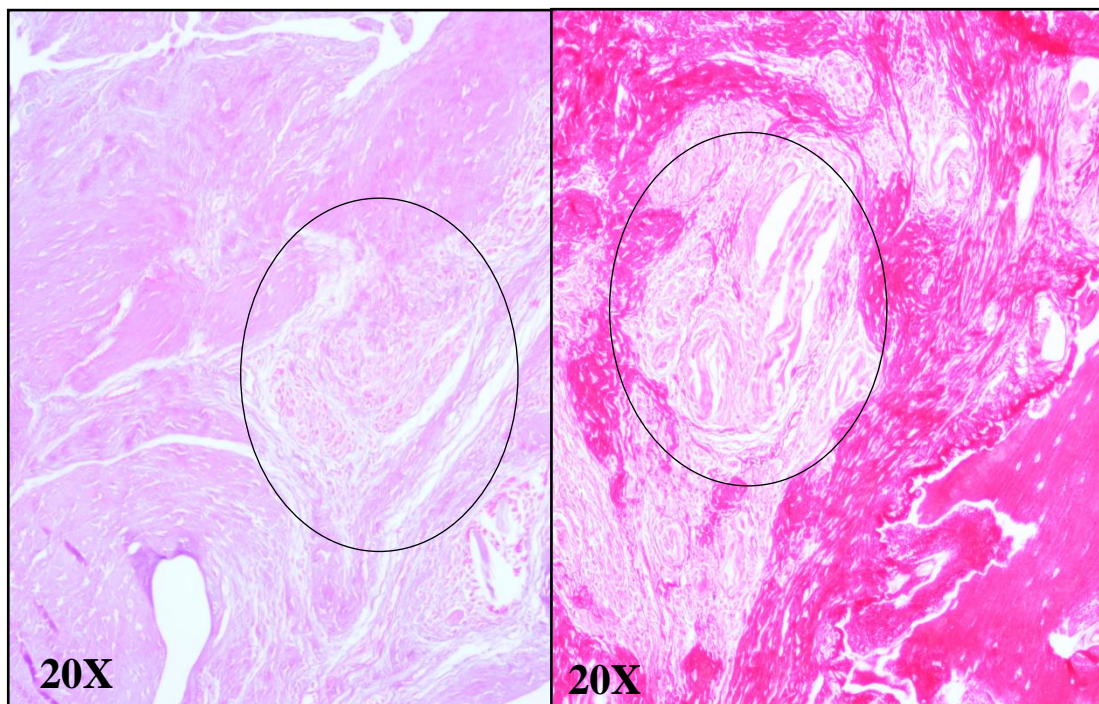
	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Sutura		0,624	0,120	0,024	0,024
Doble Control			0,659	0,248	0,248
Control Alginato				0,317	0,317
Control Quitina					1,000
Doble Muestra					

**Tabla 4.11:** Valores *p* al comparar la vascularización de todos los grupos del estudio entre sí mediante la prueba *U* Mann-Whitney. Los valores en rojo muestran las diferencias estadísticamente significativas.

#### 4.2.6 Celularidad

En las muestras en las que se empleaba sólo la sutura se encontraron con mayor frecuencia zonas con niveles elevados de celularidad, como en la figura 4.23, acompañadas de una mayor cantidad de ellas con núcleo redondeado que en el resto de las muestras (Control Alginato, Control Quitina y Doble Muestra). Sin embargo, en las muestras con transportador y proteína morfogenética, los niveles de celularidad descendían considerablemente, predominando las células con núcleo delgado, aproximándose así a los niveles y la morfología típica de la celularidad de un tendón sano (tabla 4.12).





**Figura 4.23:** Grupo Doble Control. Tinción de Hematoxilina Eosina (a la izquierda) y de Rojo Sirio (a la derecha) 20X. La tinción Rojo Sirio nos permite diferenciar las fibras de colágeno de las células y en ambas imágenes se puede observar como hay mayor celularidad en ciertas zonas del tendón (círculo).

Puntuación	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
<b>0</b>	0%	60%	100%	100%	100%
<b>1</b>	80%	40%	0%	0%	0%
<b>2</b>	20%	0%	0%	0%	0%
<b>Suma de puntuación</b>	5*	2	0	0	0

**Tabla 4.12:** Los valores expresados son el porcentaje de las muestras de un grupo y la suma de las puntuaciones de cada grupo al evaluar el ítem celularidad. La mayor puntuación (\*) se observó en el grupo Sutura mientras que los grupos Control Alginato, Control Quitina y Doble Muestra presentaron tenocitos de aspecto normal.

En la tabla 4.13 se muestran los valores obtenidos al comparar las diferentes muestras tras aplicar el U Mann-Whitney. Tras analizar los resultados podemos observar como el transportador con rhBMP-2 mejora de forma significativa los aspectos histológicos del tendón al valorar el ítem de celularidad comparado con el grupo Sutura.

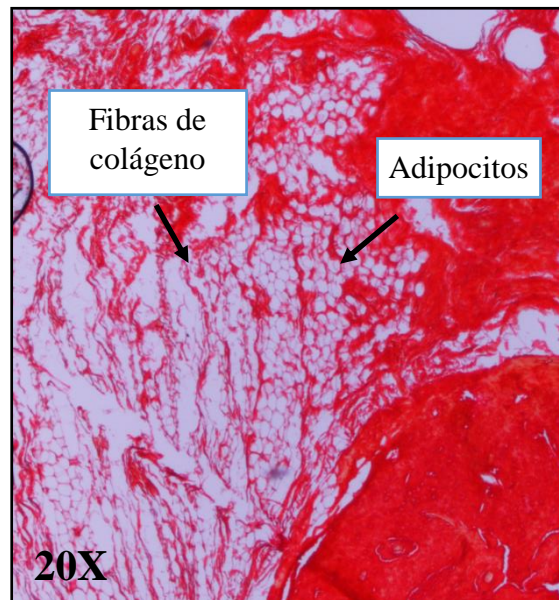
	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Sutura		0,053	0,009	0,009	0,009
Doble Control			0,248	0,248	0,248
Control Alginato				1,000	1,000
Control Quitina					1,000
Doble Muestra					

**Tabla 4.13:** Valores *p* al comparar la celularidad de todos los grupos del estudio mediante la prueba de U Mann-Whitney. Los valores en rojo muestran las diferencias estadísticamente significativas detectándose mejores resultados, estadísticamente significativos, en los grupos Control Quitina y Doble Muestra comparado con Sutura.

#### 4.2.7 Degeneración grasa

La degeneración grasa del tendón se observó con mayor frecuencia en el grupo Control Alginato (figura 4.24, tabla 4.14). Los grupos Sutura, Doble Control y Control Quitina no mostraron adipocitos en el tendón, asemejándose así a las características de un tendón normal.





**Figura 4.24:** Grupo Control Alginato. Tinción Rojo Sirio 20X. Tendón que presenta degeneración grasa. Se puede observar ausencia de continuidad de las fibras de colágeno debido a la presencia de adipocitos.

En la tabla 4.14 se resumen los resultados obtenidos en el parámetro degeneración grasa mediante la escala de valoración.

Puntuación	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
0	100%	100%	60%	100%	80%
1	0%	0%	40%	0%	20%
Suma de puntuación	0	0	2*	0	1

**Tabla 4.14:** Los valores expresados son el porcentaje de las muestras de un grupo y la suma de las puntuaciones de cada grupo. El peor resultado (\*) se observó en el grupo Control Alginato.

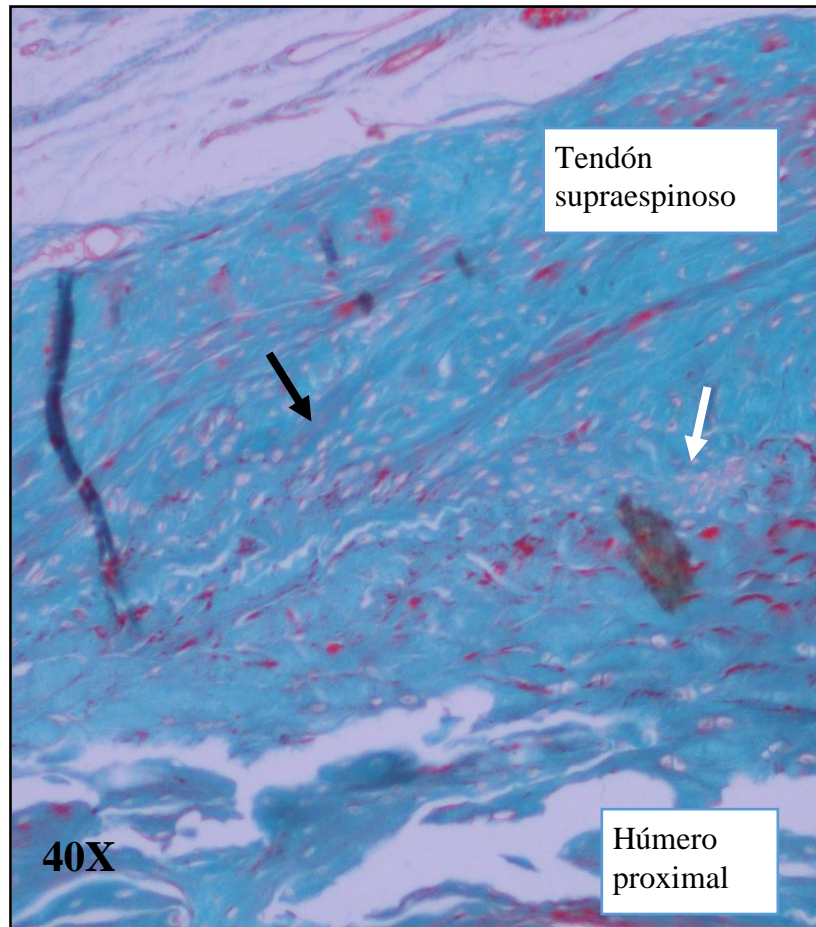
Se realizó un estudio comparativo entre los diferentes grupos sin detectarse una diferencia estadísticamente significativa (*tabla 4.15*).

	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Sutura		0,624	0,120	0,624	0,245
Doble Control			0,120	0,624	0,245
Control Alginato				0,120	0,317
Control Quitina					0,245
Doble Muestra					

**Tabla 4.15:** Valores *p* al comparar el ítem degeneración grasa de forma emparejada entre todos los grupos del estudio mediante la prueba U Mann-Whitney.

#### 4.2.8 Metaplasia condroide

En relación al parámetro de la escala de valoración que evalúa la presencia de condrocitos en el tejido de reparación, observamos un aumento de condrocitos en las muestras del grupo Control Quitina mientras que las muestras del grupo Sutura presentaron un aspecto histológico más próximo a los valores normales que el resto de las muestras (*figura 4.25*).



**Figura 4.25:** Grupo Control Quitina. Tinción Tricrómico de Masson 40X. Se observa metaplasia condroide del tendón supraespinoso (flecha negra). La flecha blanca muestra condrocitos en la zona de transición que se considera normal mientras que la extensión hacia el mismo tendón es un hallazgo patológico.

Las puntuaciones obtenidas en la escala de evaluación en el parámetro metaplasia condroide en cada una de las muestras se resumen en la tabla 4.16.

Puntuación	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
0	60%	20%	0%	100%	0%
1	40%	60%	100%	80%	100%
2	0%	20%	0%	20%	0%
Suma de puntuación	2	5	5	6	5

**Tabla 4.16:** Porcentaje de las muestras que obtienen las diferentes puntuaciones y puntuación total obtenida por cada grupo en el ítem metaplasia condroide.

Tras aplicar el estudio de contraste (U Mann-Whitney) para así analizar los grupos de forma emparejada observamos cómo los tendones reparados únicamente mediante una sutura presentaron un tendón con un aspecto más parecido a un tendón normal comparado con los grupos donde se aplicó el transportador (tabla 4.17).

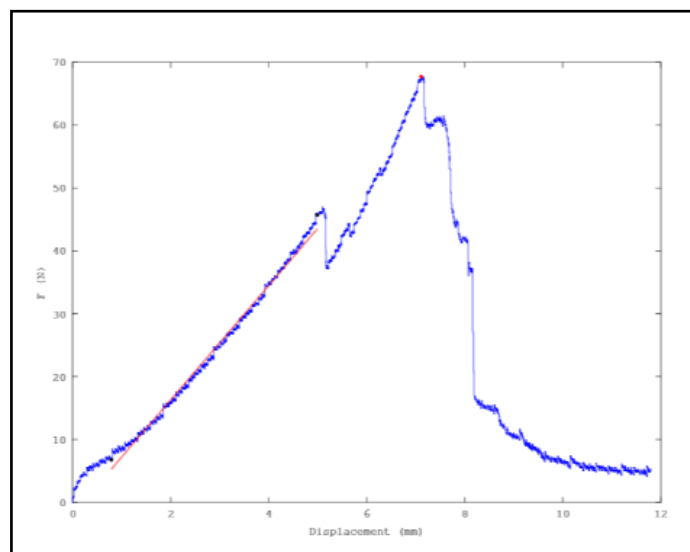
	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Sutura		0,034	0,024	0,023	0,024
Doble Control			0,248	0,823	0,248
Control Alginato				0,317	1,000
Control Quitina					0,317
Doble Muestra					

**Tabla 4.17:** Valores p al comparar el ítem metaplasia condroide de forma emparejada entre todos los grupos del estudio mediante la prueba U Mann-Whitney. Los valores en rojo muestran que las diferencias, al comparar todos los grupos del transportador con el grupo Sutura, fueron estadísticamente significativas.

## 4.3 Resultados de biomecánica

### 4.3.1 Carga máxima

Para los **hombros sanos** (Hombro No Intervenido) se obtuvieron valores de carga máxima con una mediana de 46,70 N (rango 37,66-63,72) y para los **hombros operados** estos valores fueron de 57,08 N (21,90-79,67) (figura 4.26).

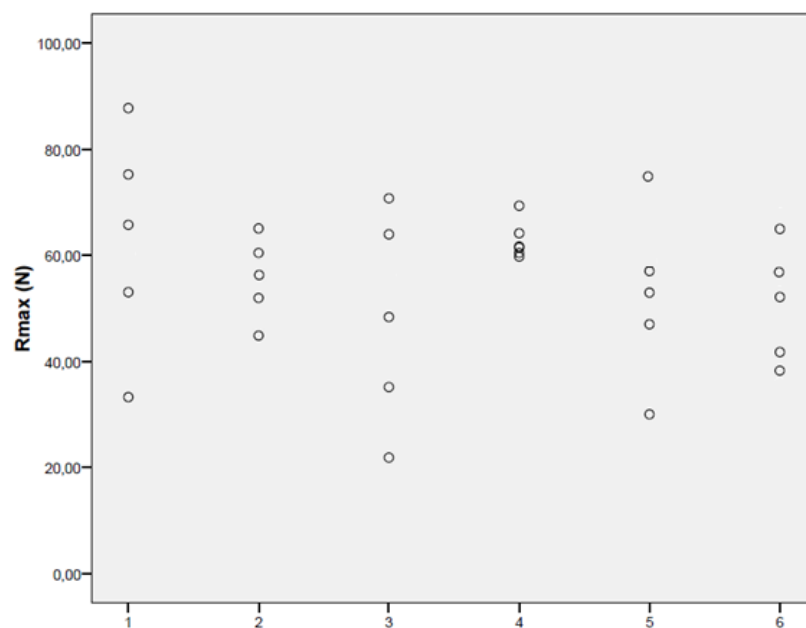


**Figura 4.26:** Curva Fuerza-Desplazamiento de un Hombro No Intervenido, el punto rojo es la carga máxima y la línea roja representa la constante elástica.

Tras analizarse los datos se observó la siguiente distribución de la carga máxima: mayor en el grupo Doble Muestra seguido por Doble Control, Control Alginato, Control Quitina, Sutura y Hombro No Intervenido (tabla 4.18 y figura 4.27).

	Hombro No Intervenido	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
<b>Media</b>	56,75	53,15	62,60	56,07	49,43	65,85
<b>Mediana</b>	56,70	51,08	63,05	56,95	52,35	61,60
<b>Desviación típica</b>	11,21	15,78	18,76	7,03	18,32	3,54
<b>Mínimo</b>	37,66	30,06	33,30	44,90	21,90	59,80
<b>Máximo</b>	63,72	79,67	87,80	65,10	70,80	69,40
<b>Percentiles</b>						
<b>-25</b>	40,90	48,04	48,15	50,23	31,88	60,33
<b>50</b>	56,70	51,08	63,05	56,95	52,35	61,60
<b>75</b>	63,90	60,37	78,43	61,65	65,70	65,50

**Tabla 4.18:** Tabla de frecuencias de la R máxima (N).



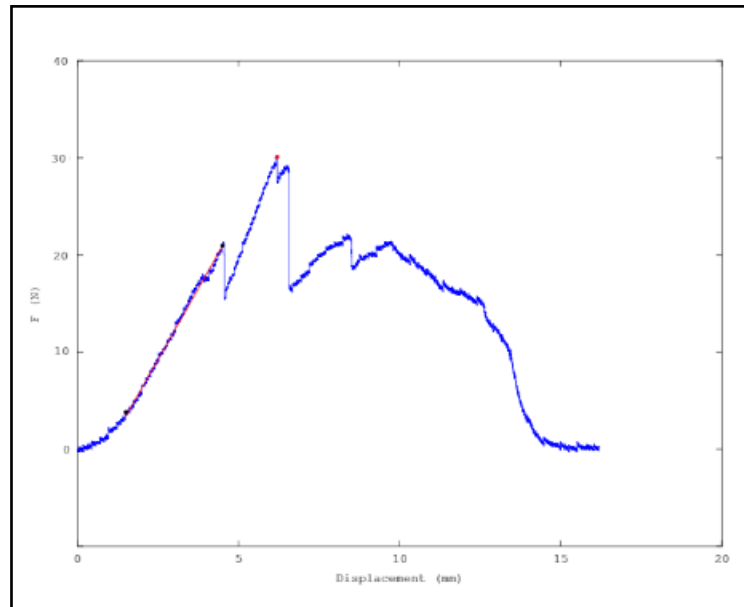
**Figura 4.27:** Diagrama de dispersión de la carga máxima (N) según los diferentes grupos donde cada animal representa un redondel. 1) Doble Control, 2) Control Alginato, 3) Control Quitina, 4) Doble Muestra, 5) Sutura y 6) Hombro No Intervenido.

Al aplicar el test U Mann-Whitney observamos que estas diferencias fueron estadísticamente significativas al comparar los grupos Hombro No Intervenido con Doble Control ( $p=0,026$ ), Hombro No Intervenido con Control Alginato ( $p=0,046$ ), Hombro No Intervenido con Doble Muestra ( $P=0,001$ ) y Doble Muestra con Sutura ( $p=0,025$ ) (*tabla 4.19*).

	Hombro No Intervenido	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Hombro No Intervenido		0,075	0,026	0,046	0,537	0,001
Sutura			0,289	0,906	0,637	0,025
Doble Control				0,337	0,187	1,000
Control Alginato					0,631	0,065
Control Quitina						0,200
Doble Muestra						

**Tabla 4.19:** P-valor al comparar la carga máxima de forma emparejada entre todos los grupos del estudio mediante la prueba U Mann-Whitney.

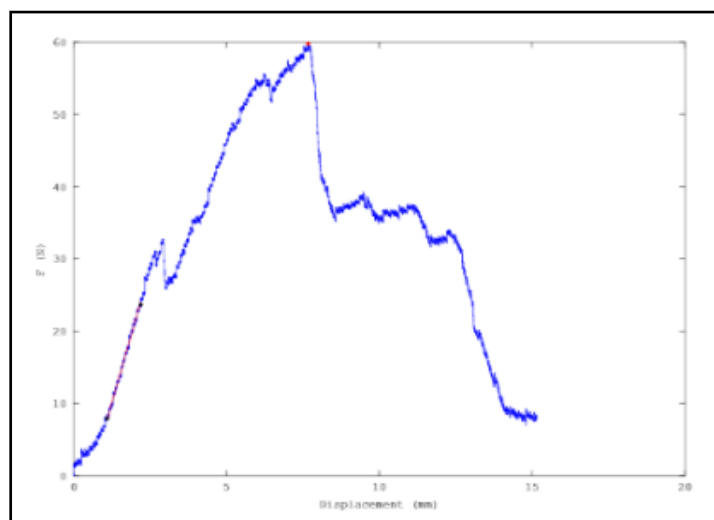
En este estudio la carga máxima fue mayor en todos los grupos comparados con los Hombros No Intervenido. Las piezas que tenían cualquier tipo de transportador precisaron mayor carga para conseguir su rotura permanente comparado con el grupo sólo Sutura (*figura 4.28*).



**Figura 4.28:** Curva Fuerza-Desplazamiento de una muestra del grupo Sutura donde observamos una carga máxima (punto rojo) de 30,06 N, siendo esta la menor de las cargas del grupo.

Al comparar la mediana de los hombros intervenidos se puede observar como Control Quitina tiene valores inferiores de carga máxima que los grupos Control Alginato seguido de Sutura, Doble Muestra y finalmente, con mayor carga máxima, Doble Control. Tras una valoración de la distribución de los resultados consideramos que los resultados más homogéneos se encuentran en el grupo Doble Muestra que, a pesar de tener una mediana ligeramente menor que el grupo Doble Control, representan un mejor resultado conjuntamente que los otros grupos (*figura 4.29*).





**Figura 4.29:** Curva Fuerza-Desplazamiento de un tendón supraespinooso proveniente del grupo Doble Muestra. La carga máxima de 59,08 N (punto rojo), representa la menor de las cargas máximas del grupo.

El grupo Control Alginato presenta valores más homogéneos que Control Quitina y Doble Control y los valores más dispersos se encuentran en el grupo Sutura.

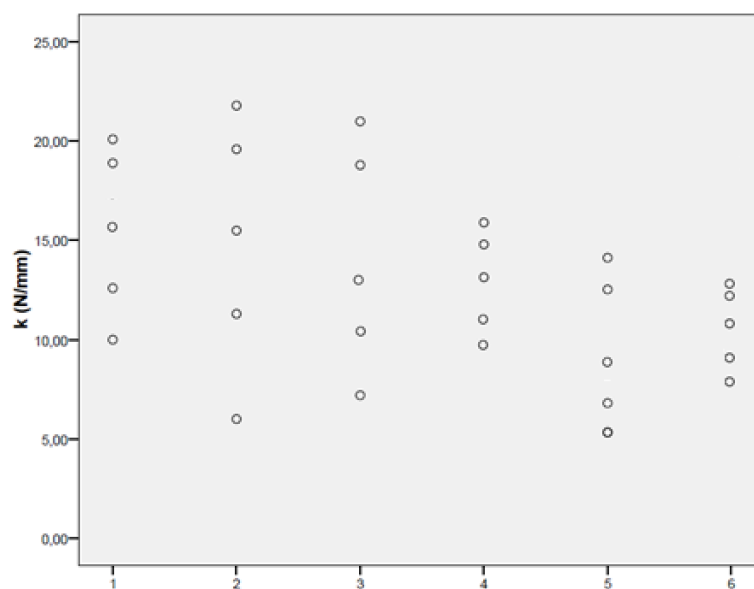
### 4.3.2 Constante elástica

La rigidez se valoró mediante la constante elástica  $k$  donde cabe destacar que a mayor valor menos elasticidad.

Para los **hombros sanos** (Hombro No Intervenido) se obtuvo una mediana de 10,67 N/mm (rango 8,00-13,20) y para los **hombros operados** estos valores fueron de 3,83 N/mm (5,33-21,80). Al comparar los grupos se observó la siguiente distribución (en orden descendente): Doble Control, Control Alginato, Control Quitina, Doble Muestra, Hombro No Intervenido y Sutura (tabla 4.20 y figura 4.30).

	Hombro No Intervenido	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
<b>Media</b>	10,71	9,39	15,82	15,13	13,63	12,70
<b>Mediana</b>	10,67	9,33	16,65	16,05	12,20	12,55
<b>Desviación típica</b>	3,93	2,98	3,83	5,74	5,32	2,50
<b>Mínimo</b>	8,00	5,33	10,00	6,00	7,20	9,70
<b>Máximo</b>	13,20	14,13	20,10	21,80	21,00	15,90
<b>Percentiles</b>						
<b>-25</b>	8,51	6,67	11,95	9,98	9,60	10,45
<b>50</b>	10,67	9,33	16,65	16,05	12,20	12,55
<b>75</b>	13,12	11,60	19,20	19,20	19,35	15,08

**Tabla 4.20:** Tabla de frecuencias de la resistencia (N/mm).



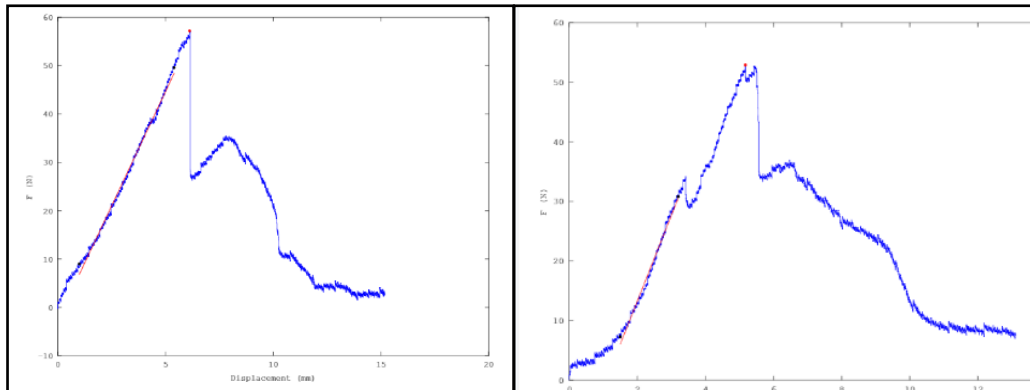
**Figura 4.30:** Diagrama de dispersión de la resistencia (N/mm) según los diferentes grupos donde cada animal representa un redondel. 1) Doble Control, 2) Control Alginato, 3) Control Quitina, 4) Doble Muestra, 5) Sutura y 6) Hombro No Intervenido.

El análisis U Mann-Whitney detectó diferencias entre los grupos Hombro No Intervenido y Doble Control ( $p=0,009$ ), Doble Control y Sutura ( $p=0,009$ ), Control Alginato y Sutura ( $p=0,034$ ) y Doble Muestra y Sutura ( $p=0,034$ ) (tabla 4.21).

	Hombro No Intervenido	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra
Hombro No Intervenido		0,446	0,009	0,058	0,266	0,161
Sutura			0,009	0,034	0,125	0,034
Doble Control				0,810	0,522	0,109
Control Alginato					0,522	0,200
Control Quitina						0,936
Doble Muestra						

**Tabla 4.21:** P-valor al comparar la resistencia mediante la prueba U Mann-Whitney.

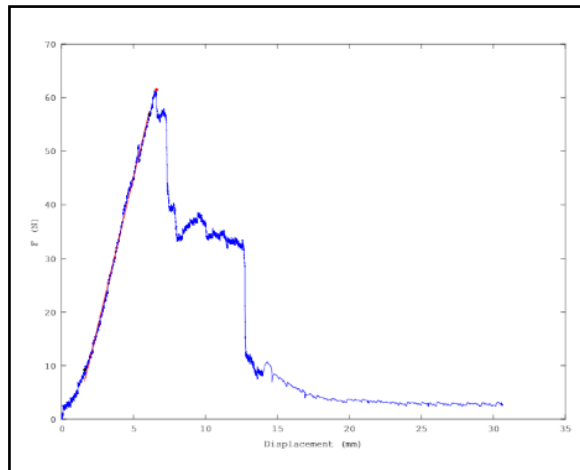
Podemos observar como la Sutura tiene menor constante elástica que el Hombro No Intervenido mientras que el resto de los grupos superan la constante elástica de un Hombro No Intervenido (figura 4.31).



**Figura 4.31:** La curva Fuerza-Desplazamiento del grupo Sutura (a la izquierda) presenta una  $k=9,4$  mientras que la de un Hombro No Intervenido (a la derecha) tiene una  $k=14,4$ .

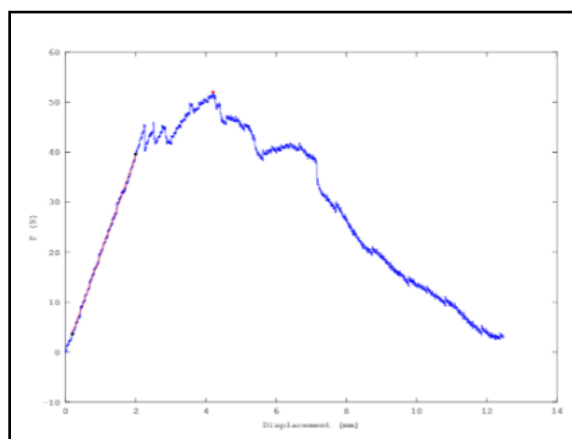
El grupo Doble Muestra tiene una resistencia ligeramente mayor que un Hombro No Intervenido y el grupo Control Quitina tiene una mediana parecida pero percentiles más dispersos. El grupo Control Alginato parece ligeramente menos resistente que el grupo Doble Control que es el más resistente, y por lo tanto menos elástico.

Teniendo en cuenta los 2 parámetros biomecánicos podemos observar cómo el grupo Doble Muestra, además de ser el grupo que presenta los resultados más homogéneos, también presenta muy buenos valores en cuanto a una carga máxima (mediana 61,60 N) y elasticidad (mediana 12,55 N/mm) (figura 4.32).



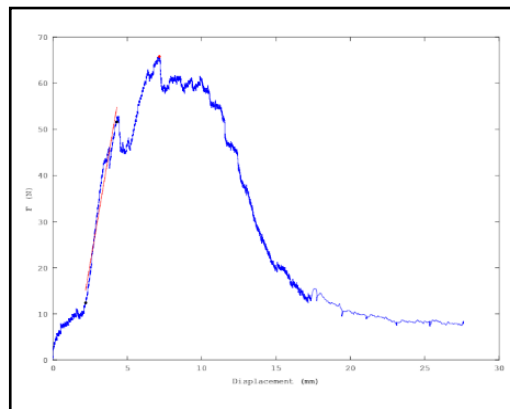
**Figura 4.32:** La curva Fuerza-Desplazamiento de la mediana del grupo Doble Muestra, carga máxima=61,60 N (punto rojo) y  $k=12,55$  N/mm (línea roja).

La elasticidad se ve superada sólo por el grupo Sutura (mediana 9,33 N/mm) que es incluso menos resistente que un Hombro No Intervenido además de tener mayor dispersión y peor carga máxima (mediana 57,08 N). El grupo Control Alginato presenta resultados homogéneos y con una buena carga máxima (mediana 52,35 N) pero es mucho menos elástico que los previos (mediana 16,05 N/mm) (figura 4.33).



**Figura 4.33:** La mediana de las curvas Fuerza-Desplazamiento de Control Alginato: carga máxima=52,35 N,  $k=16,05$  N/mm.

En cuanto al grupo Control Quitina la carga máxima es menor que el resto de los grupos (mediana 52,35 N) y es además más resistente (media 12,20 N/mm) observándose, en los 2 parámetros, una amplia distribución. El grupo Doble Control aguanta mucha carga máxima (mediana 63,05 N) pero los resultados no son uniformes y la resistencia es mayor que en los otros grupos (mediana 16,65 N/mm) (figura 4.34).



**Figura 4.34:** Curva Fuerza-Desplazamiento del grupo Doble Control donde se observa una carga máxima de 63,05 N y una constante elástica ( $k$ ) de 16,65 N/mm.

# V. DISCUSIÓN

## 5.1 Modelo experimental

### 5.1.1. Anatomía y biomecánica comparada

Las lesiones del manguito rotador se han estudiado en muchos modelos animales. El problema es que en gran parte de ellos existe una gran diferencia desde el punto de vista anatómico con el hombro humano. Dentro de los cuadrúpedos se ha empleado el tendón subescapular del conejo blanco de raza neozelandesa ya que anatómica-, histológica- y biomecánicamente se parece al tendón supraespinoso del humano (99). El perro en cambio, presenta muchas limitaciones ya que anatómicamente difiere bastante: el acromion es vestigial y carece de proceso coracoideo, ligamento coracoacromial y clavícula (100). Otro modelo utilizado es la oveja alpina que tiene un tendón infraespinoso muy parecido al supraespinoso del humano pero presenta mayor densidad de fibras de colágeno (55). La mayor parte de estos modelos en los que se utilizan animales de cierto tamaño, han sido empleados en el estudio de la reparación de lesiones agudas.

A diferencia del ser humano, los tendones del supraespinoso, infraespinoso y redondo menor de los cuadrúpedos no confluyen para formar un tendón conjunto único que se inserte en el troquíter (101). Histológicamente el humano tiene varias capas en el tendón supraespinoso: una capa longitudinal y una transversal en la porción más articular; mientras que en los cuadrúpedos la mayoría de las fibras de colágeno son longitudinales y la presencia de fibras transversales es ocasional. El manguito rotador del humano tiene, además, fibras transversales ortogonales alineadas que ayudan a mantener unidos los tendones, de manera que se facilita la transmisión de fuerza a través del mismo haciendo más eficiente la función motora del hombro. Este “verdadero” manguito rotador sólo se puede encontrar en primates avanzados y el canguro arborícola. Se cree que esta diferencia es debida a que los cuadrúpedos usan principalmente el



hombro para movimientos en el plano sagital mientras que los bípedos lo usan además para movimientos en el plano coronal y la realización de rotaciones (102). Además, parece que existe una correlación con la utilización del brazo por encima de la cabeza.

La rata resulta un animal ideal para el estudio de las lesiones crónicas del manguito rotador por motivos tanto anatómicos como funcionales. Anatómicamente es el animal que más se asemeja al humano (103). Posee un arco coracoacromial formado por la coracoides, el acromion, la clavícula y el ligamento coracoacromial por debajo del cual discurre el tendón supraespinoso. El movimiento repetitivo de correr, excavar o comer provoca el deslizamiento del tendón por debajo de este arco de manera comparable a como ocurre en el ser humano, lo que predispone al tendón supraespinoso de la rata a sufrir lesiones crónicas parecidas a las acontecidas en el hombro humano.

Por otro lado, las similitudes desde el punto de vista funcional resultan esenciales. A pesar de ser un cuadrúpedo, la rata no utiliza sus extremidades anteriores exclusivamente para soportar el peso corporal, sino que además realiza movimientos repetitivos por encima de la cabeza con la finalidad de acicalarse y comer, realizando así una actividad diaria muy parecida a la de los homínidos. Además es un animal que ha sido ampliamente empleado como animal de experimentación para modelos etiopatogénicos: extrínsecos, intrínsecos y por sobreuso como sucede en la clínica humana por su similitud anatómica y biomecánica (4,58,103,104).

La edad del animal que se emplea en el modelo experimental es otro factor importante. En la patología del manguito rotador del ser humano, la edad del paciente es una variable esencial en la tasa de éxito tras una reparación, entre otros motivos por la reducción en la capacidad de cicatrización que presentan los pacientes de edad avanzada. Para nuestro estudio se emplearon

ratas maduras de 8 meses de edad (la vida media de la rata es de 30 meses), en los que la respuesta reparadora se encuentra ya de por sí considerablemente disminuida, reproduciendo así más exactamente lo acontecido en el ser humano (58,104,105).

A las ventajas anatómicas y funcionales que lo asemejan al hombro humano hay que añadir otras como su fácil manejo, un corto periodo de gestación, y que son animales de rápido crecimiento y de vida media corta. Además, desde el punto de vista económico, su mantenimiento diario, comparado con otras especies, resulta más asequible.

Estos motivos, y la experiencia previa de nuestro grupo de investigación con este animal han hecho que nos decantemos por él para la realización de este trabajo, a pesar de la dificultad que conlleva la cirugía tendinosa en un animal tan pequeño y que puede requerir la realización de un entrenamiento específico en técnicas de microcirugía (58,104).

### **5.1.2 Modelo de lesión crónica**

El principal objetivo de la cirugía del manguito rotador es la reparación de la rotura tendinosa con el fin de restablecer la continuidad osteotendinosa, para así recuperar la fuerza y la función. Las roturas agudas, cuando se diagnostican, deben ser reparadas de forma urgente. Desafortunadamente, esta situación no es la que nos encontramos en nuestra práctica clínica diaria ya que lo habitual es que los pacientes que acuden a nuestras consultas presenten roturas crónicas donde el manguito se encuentra retraído, fibrosado, con degeneración de los bordes tendinosos y una atrofia muscular asociada. Por lo tanto es importante que el modelo de lesión que empleamos se asemeje lo máximo posible a esta situación.

Los modelos de reparación de lesiones agudas en ratas están ampliamente descritos pero se ha visto que la cicatrización de una lesión aguda se diferencia de la que se observa tras la reparación de una lesión crónica (105,106). Buchmann y cols. realizaron una sección tendinosa en 46 ratas tipo Sprague-Dawley de 12 semanas para posteriormente evaluarlas tanto macroscópicamente como histológicamente a las 3, 6 y 9 semanas. Observaron un espacio osteotendinoso completo en un 60% de los animales a las 3 semanas que fue disminuyendo en los otros 2 grupos. A nivel histológico observaron que la degeneración muscular había disminuido hasta llegar a valores normales a partir de las 9 semanas postoperatorias; mientras que en cuanto a la estructura tendinosa se observaron valores más parecidos a los de un tendón normal a las 9 semanas comparados con los obtenidos a las 3 y 6 semanas. Luego cabe destacar que la lesión crónica en las ratas se mantiene por lo menos hasta la tercera semana pero, en animales jóvenes como los empleados en el estudio, estas acaban autoregenerándose hacia la novena semanas tras la sección. Nuestro grupo de estudio creó un modelo de lesión en ratas que tras su reparación al mes fue evaluado a diferentes tiempos de evolución (1, 2 y 3 meses). Los resultados validaron el modelo de la lesión crónica (58,104). Histológicamente se observó retracción tendinosa con degeneración y fibrosis de los bordes además de un espacio osteotendinoso, mientras que a nivel biomecánico se obtuvo menos fuerza y mayor rigidez comparado con hombros sanos. A pesar de que Buchmann y cols. indicaron que la lesión crónica se reproducía mejor la tercera semana tras la sección no fueron capaces de observar diferencias histológicas entre la tercera y la sexta semana por lo que optamos por seguir el modelo de lesión crónica empleado con anterioridad por nuestro grupo de trabajo (58,104,105). En el estudio actual no se evidenció ningún caso con una regeneración espontánea a las 4 semanas de la sección. Todos los casos presentaban un espacio osteotendinoso donde debía estar el tendón supraespinoso por lo que no existía una recuperación natural del tendón en el momento de la reintervención.

### 5.1.3 Reparación tendinosa

En cuanto a la reparación tendinosa, la **sutura tipo Mason-Allen modificada** ha sido ampliamente utilizada para este tipo de estudios (4,58,104). Gerber realizó estudios biomecánicos con tendones infraespinosos ovinos para comparar la fuerza de las diferentes suturas y consiguieron obtener una carga máxima de hasta 359N con 2 puntos de Mason-Allen modificados transóseos (51,55). Además, Derwin y cols. constataron que, a pesar de solo tener dos tercios de la fuerza de una sutura tipo Krakow, una sutura tipo Mason-Allen modificada pasa menos veces alrededor y a través del tendón aportando así un buen equilibrio entre la fuerza y la preservación tendinosa (100).

La elección del tipo de **material de la sutura** es crucial para la estabilidad de la reparación (55). El poliéster trenzado (p.ej. Ethibond®) es un material muy rígido y con una elevada carga máxima mientras que suturas trenzadas reabsorbibles como el Vicryl® tienen propiedades mecánicas parecidas *in vitro* pero una vez implantados en el tejido celular subcutáneo o músculo la fuerza se ve disminuida en un 50%. Los monofilamentos absorbibles también pierden un 50% de su fuerza inicial tras la implantación, en este caso pasadas las 3-5 semanas. Esto hace que tanto las suturas reabsorbibles, trenzadas como monofilamentos, no sean adecuadas para la reparación del manguito rotador ya que se necesitan por lo menos 6 semanas para poder asegurar una fijación biológica del mismo. El Prolene posee un bajo coeficiente de fricción y una gran capacidad de recuperación elástica a la vez que crea una mínima reacción inflamatoria en los tejidos y se ha descrito como parche de aumentación con buenos resultados (107). Dado el tamaño del tendón supraespinoso en las ratas optamos por realizar una sutura de monofilamento no absorbible tipo Prolene® (Ethicon) de 6/0.

Como hemos visto en la introducción el abanico de **transportadores** que encontramos en los procedimientos de ingeniería tisular es muy amplio. Nosotros nos decantamos por el empleo de dos transportadores con los que tenemos experiencia previa en procesos de ingeniería tisular, la quitina y el alginato, por diferentes motivos (108).

La **quitina** es un polisacárido que se encuentra en el exoesqueleto de los crustáceos e insectos.

Son muchas las propiedades que se le atribuyen:

- Una excelente biocompatibilidad y baja citotoxicidad ya que los productos generados de su degradación enzimática son oligosacáridos reabsorbibles (109,110).
- La facilidad en su fabricación y la posibilidad de realizarlo en diferentes formas (matrices porosas, films, geles, nanofibras).
- Se ha visto que produce una reacción inflamatoria mínima alrededor del transportador y que tiene propiedades antifúngicas y bacteriostáticas (110,111).

Comparado con otros polímeros sintéticos, presenta una excelente capacidad de adhesión celular.

La quitina tiene una gran similitud química con los glicosaminoglicanos del tendón y de la matriz ósea por lo que interacciona con ellos. Dado que las propiedades de los glicosaminoglicanos incluyen además muchas interacciones específicas con los factores de crecimiento, receptores y proteínas de adhesión, la similitud estructural de la quitina sugiere su relación con estos procesos biológicos.

La existencia de diversos estudios tanto *in vivo* como *in vitro* de su actividad como transportador aislado o en combinación con células, con la presencia de unos buenos resultados, es otra de las razones de su elección (109). Una de las características más importantes de este compuesto es que puede ser procesado a una estructura porosa para su empleo como transportador de células en procesos de reparación tisular. Se ha visto que, además, es de los pocos transportadores que se

puede transformar desde su forma inicial isotrópica en un transportador anisotrópico, sin que se vean afectadas sus otras propiedades, simulando así mejor las estructuras fibrosas anisotrópicas que generalmente se ven en todos los tejidos (112). Puede emplearse en la liberación controlada de fármacos y es un buen vector para la liberación genética. En la reparación del manguito rotador se ha estudiado en combinación con fibroblastos en estudios *in vivo* comprobando que promueve la regeneración del colágeno tipo I a la vez que mejora las propiedades biomecánicas del tendón (113). En combinación con BMP-2, tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*, ha demostrado su capacidad osteoinductora (95). También se han empleado combinaciones de alginato, células y BMP-2 inyectados en el tejido subcutáneo de ratas que demuestran esta capacidad (114).

Las tres características mencionadas: capacidad de adhesión de células, de vehiculizar la proteína morfogenética y su poder osteoinductor, característica esta última que resulta esencial para favorecer la curación en las lesiones que afectan a la unión osteotendinosas, son en esencia el motivo de su elección. A estas tres propiedades hay que añadir que el grupo de trabajo del Instituto de Estudios Biofuncionales tiene una amplia experiencia en el uso de este material como soporte para la regeneración de tejidos óseos.

En relación al **alginato** hay que señalar que es uno de los biomateriales más empleados como portador celular (115,116). Es un polisacárido derivado de algas que no se degrada enzimáticamente pero que puede sufrir una degradación debido a la disociación de sus entrecruzamientos (117). A diferencia de otros polisacáridos como la agarosa, las reacciones inflamatorias que genera tras su implantación son mínimas y su semipermeabilidad permite la adhesión de células facilitando además su proliferación y diferenciación (115,116). Se entrecruza fácilmente, cationes como iones de calcio pueden ser suficiente, para así poder elaborar la porosidad y estabilidad mecánica deseada. Posee además, unas excelentes propiedades de biocompatibilidad y atoxicidad y se degrada lentamente.

Al combinar alginato con BMP-2 *in vitro* se ha visto cómo la actividad de los osteoblastos se ve aumentada a la vez que promueve la diferenciación de células mesenquimales hacia células osteogénicas (118). Su empleo en el tratamiento de lesiones tendinosas en conejos *in vivo* ha demostrado la capacidad que tiene de promover una reparación tendinosa con fibras de colágeno paralelas, menor formación de tejido cicatricial y menor adhesión a tejidos circundantes (119). Además, se ha descrito el uso del alginato como material para la liberación controlada de fármacos y como portador de células y BMP, así como de células genéticamente modificadas para que expresen factores de crecimiento, que avalan sus buenos resultados (116,120).

La **combinación de alginato y quitina** es interesante; el alginato es un transportador muy versátil pero de lenta degradación mientras que la quitina, con su estructura parecida a la de un glicosaminoglicano, posee muchas ventajas estructurales y además promueve la adhesión de los fibroblastos a la vez que favorece una osteointegración. La desventaja de la quitina es que, como transportador único, es frágil por lo que la unión con el alginato produciría un transportador más estable (121). De esta forma se ha visto que las propiedades del alginato se ven mejoradas cuando éste se une a la quitina. Majima y cols. realizaron un estudio *in vitro* donde observaron cómo la adhesión de los fibroblastos, la densidad de las fibras de colágeno y la carga máxima aumentaban al aplicar un transportador con alginato-quitina sobre un tendón de conejo comparado con el empleo de quitina aislada como transportador (68).

En relación al empleo de **factores de crecimiento** son varios los estudios que los han empleado en los procesos de regeneración tisular vehiculizados en un transportador. Su capacidad de actuación sobre el tendón ha sido demostrada tanto en estudios *in vitro* como en estudios *in vivo*. *In vitro* Berasi col. y analizaron las diferentes actividades de las BMPs, concluyendo que la BMP-2 es osteogénica, la BMP-12 y BMP-13 son tenocíticas; e inducen la expresión de genes diferentes: la BMP-2 los relacionados con los marcadores de osteoblastos y la BMP-12 y 13 con los genes específicos de tendón (122). Fu y cols. estudiaron tanto el efecto de la BMP-12 como

el de la BMP-13 sobre muestras de tendón rotuliano humano observando cómo ambos aumentaban la proliferación de los fibroblastos y la expresión de procolágeno tipo I *in vitro* mientras que la BMP-12 además aumentaba el procolágeno tipo III (71,76). En estudios *in vivo*, Seeherman y cols. evaluaron la capacidad de curación de la proteína morfogenética del hueso humano recombinante (rhBMP-12) en un modelo de reparación del manguito rotador en oveja tras lesiones agudas, administrada en un vehículo de colágeno (esponja de colágeno), comprobando que la rhBMP-12 aceleraba la curación del tendón dañado (74).

En concreto nosotros nos hemos decantado por el empleo de la rhBMP-2 por los siguientes motivos:

1- La acción *in vitro* de la BMP-2 sobre células tendinosas pertenecientes al manguito rotador ha sido demostrada en estudios previos (70,79). Pauly y cols. analizaron la influencia de las proteínas morfogenéticas óseas 2 y 7 en la actividad celular de tenocitos *in vitro* aislados de manguito rotador humano y en la expresión y producción de matriz, comprobando que provocaban un incremento significativo de la producción de colágeno tipo I, además de aumentar la expresión de fosfatasa alcalina y mineralización focal sugiriendo una diferenciación hacia el fenotipo de osteocito (70). Consideraron que a nivel celular, la estimulación con BMP-2 y BMP-7 podría favorecer la reparación biológica y que la actividad de estos 2 factores de crecimiento era dosis-dependiente (79).

2- La localización más común de rotura tendinosa en la práctica clínica diaria es en la inserción del tendón en el hueso (troquíter). Resulta por lo tanto más interesante de cara a la reparación a este nivel el empleo de sustancias como la rhBMP-2 que actúan tanto sobre tenocitos como osteoblastos, en lugar de otros factores de crecimiento o proteínas morfogenéticas (TGF- $\beta$ , BMP-12 y BMP-13 o bFGF), que actúan únicamente a nivel tendinoso resultando útiles sobre todo para la reparación de lesiones tendón-tendón (11,70,71,74,76,81). Rodeo y cols. realizaron



un estudio en 72 ovejas con transportadores y factores de crecimiento con capacidad osteoinductiva como la BMP-2 y la BMP-7 obteniendo un tejido muy parecido a un tendón nativo con fibras de colágeno bien organizadas en la unión osteotendinosa (78). Lee y cols. también evaluaron en un modelo de lesión crónica en conejo la actividad de la rhBMP-2 vehiculizada en un parche de dermis humana obteniendo mejoras tanto histológicas como biomecánicas con su empleo (123). A pesar de que el mecanismo es poco conocido, es posible que la cicatrización suceda a través del crecimiento óseo hacia la interfaz osteotendinosa. Su poder osteoinductivo también podría ejercer un efecto positivo sobre la osteoporosis del troquíter que frecuentemente se ve tras roturas crónicas del manguito rotador y en el paciente anciano, aumentando así la fuerza del anclaje de la sutura.

#### **5.1.4 Eutanasia de los animales**

El momento elegido para el sacrificio de los animales y evaluación de los resultados no es casual. Se ha comprobado que, en respuesta a la reparación del tendón se produce una reacción inflamatoria en la zona de la sutura con tejido cicatricial que podría alterar el resultados a largo plazo de la evaluación histológica y biomecánica (124). La inflamación generada en las fases iniciales ocasiona un aumento de la rigidez en la zona de la sutura, de ahí la importancia de realizar una evaluación más tardía (4 meses) dando tiempo a la finalización completa del proceso de remodelación biológico del tejido de reparación, hasta adquirir éste sus características mecánicas óptimas incluyendo la anisotropía (125,126). Dicho proceso tiene lugar entre las semanas 6-8 desde que se produce la lesión y durante él tiene lugar un descenso la celularidad apareciendo un patrón fibrilar más organizado (13,127).

Tornero-Esteban y cols. observaron mejores valores a los 3 meses de la reparación que el primer y segundo mes, pero seguían persistiendo una elevada formación de vasos y un elevado número

de tenocitos con núcleo redondeado el tercer mes (58,104). Sugirieron que esto podría indicar que el proceso de remodelación no se había llevado a cabo y que se debería evaluar el tejido tendinoso en tiempos más largos. Al analizar nuestros animales al cuarto mes tras la reparación no observamos parámetros de vascularización y de celularidad muy elevados, sugiriendo que la reparación tendinosa está más completa a los cuatro meses de la reparación.

### **5.1.5 Desarrollo de técnica de ensayo**

Al realizar el estudio biomecánico, como incidencia nos encontramos que tras la aplicación de las fuerzas por la máquina de tracción antes del fallo del tendón se produciría un fracaso del hueso que venía expresado en forma de una fractura metafiso-diafisaria del húmero proximal. Éste es un hallazgo ya descrito en la bibliografía; Grumet y cols. observaron que la fisis se separó de la diáfisis en conejos de raza blanca neozelandesa al realizar estudios biomecánicos con una máquina universal de ensayo tipo Instron® (99). Al revisar la edad a la que se cierran las fisis de los huesos largos en diferentes animales de experimentación, Kilborn y cols. detectaron que no existía, al contrario que en los humanos, correlación entre el cierre fisario y el cese del crecimiento (128). En cuanto a los roedores se observó como el ratio entre el crecimiento óseo y la vida media era mucho mayor que en otras especies, persistiendo durante mucho tiempo a pesar de que las ratas se consideren adultas.

Esto ha afectado a otros autores, como Kovacevic y cols., que también tuvieron que modificar las mordazas del estudio biomecánico para evitar fracturas de la extremidad proximal del húmero, correspondiente con la fisis proximal, en ratas adultas (129). Nosotros optamos por fijar la fisis con una síntesis, al igual que Grumet y cols., debido a la dificultad de adaptar las mordazas para que permitiesen la fijación de la extremidad proximal del húmero (99). Considerando el tamaño de la diáfisis humeral de la rata realizamos una fijación con agujas tipo

Kirschner intramedulares de 1 mm de diámetro. Para definir el tamaño se probaron agujas la de 0,8, 1 y 1,25 mm observando cómo la aguja de 1,25 producía una fractura diafisaria debido a la estrechez de la diáfisis humeral mientras que la 0,8 mm no proporcionaba la estabilidad necesaria, por lo que decidimos usar la de 1 mm.

Al insertar la aguja con motor se tuvo especial cuidado para no lesionar el tendón supraespinoso insertándola de forma anterógrada desde la zona posterior del polo superior de la cabeza humeral. Para mayor protección del tendón supraespinoso se realizaba una rotación interna del húmero desplazando así el tendón un poco anteriormente en relación a la cabeza humeral además de realizar retropulsión del hombro.

Tras la fijación con una aguja endomedular no se observaron más fracturas fisarias.

## **5.2 Discusión de los resultados**

### **5.2.1 Resultados macroscópicos**

Al inicio del proceso, es decir, en el momento de crear la lesión, al realizar la reparación y tras la eutanasia, los animales fueron pesados. Las piezas extraídas se fotografiaron y analizaron macroscópicamente. Al valorar el peso de las ratas pudimos observar que, a pesar de no ser significativo, el peso aumentó ligeramente el primer mes entre la lesión crónica (sección tendinosa) y la reparación, con un mayor aumento a los 4 meses desde la reparación hasta la eutanasia. Esto nos indica que las ratas pudieron comer adecuadamente a pesar de haber sido intervenidas de un hombro y que el estrés que les pudiera ocasionar la intervención no les ocasionó pérdida de peso.

El examen macroscópico en el momento de la reparación tendinosa mostró un “espacio” en la zona de inserción del hueso como consecuencia de la retracción del tendón supraespinoso y en conjunto la unidad musculotendinosa, ratificando esta ausencia tendinosa el modelo de lesión. A diferencia de otros autores que encontraron en modelos de lesión crónica signos de regeneración espontánea, nosotros no encontramos tejido de reparación o cicatrización alguno, esto probablemente guarde relación con dos hechos (124). En primer lugar la edad de los animales empleados, animales envejecidos con una capacidad espontánea de reparación considerablemente disminuida. En segundo lugar; el momento de realizar la evaluación. Como hemos explicado anteriormente la eutanasia de los animales a los 4 meses de la lesión nos asegura la finalización del proceso de remodelación.

Al analizar los resultados macroscópicos de las piezas escapulohumerales observamos 5 casos de rerrotura, todos ellos se correspondían con las suturas que en el momento de la reparación habían quedado con una excesiva tensión debido a la importante retracción que presentaba el tendón. Esta relación entre la retracción tendinosa, la sutura a tensión y el riesgo de rerrotura ha sido estudiada con anterioridad. Saul y cols. realizaron un estudio biomecánico en un modelo humano computerizado donde evaluaron la tensión de las suturas del tendón supraespinoso en función del tamaño de la rotura (130). Detectaron que roturas con un espacio osteotendinoso mayor a 0,5 cm excedía la fuerza que podían aguantar tanto la sutura como el implante. No consideramos por lo tanto, que las rerroturas encontradas guarden relación alguna con el tipo de sutura y/o transportador empleado sino con la tensión que soportaba el tendón.

En relación a los otros signos evaluados en nuestra valoración macroscópica encontramos una mayor atrofia muscular en el grupo Sutura y Doble Control mientras que la presencia de calcificaciones fue relativamente parecida en todos los grupos. No se observaron signos indicadores de proceso infeccioso-inflamatorio al realizar el estudio macroscópico. El transportador empleado posiblemente haya influido en esto. Por un lado, como comentamos con

anterioridad, el alginato es una sustancia extremadamente biocompatible, lo que se traduce en la ausencia de procesos inflamatorios y cicatriciales (fibrosis, aumento del líquido articular etc...). Por otro lado, la quitina proporciona una actividad antiinflamatoria y antimicrobiana, ésta última tanto debido al aumento de la estabilidad celular que dificultar la penetración de las bacterias, como por una actividad bacteriostática directa (131). Shim y cols. describieron la ausencia de signos inflamatorios al emplear un transportador de colágeno y ácido poliláctico al que añadieron rhBMP-2 en uno de los grupos, por lo que sugieren un posible papel de la rhBMP-2 también en este sentido (132).

### **5.2.2 Resultados histológicos**

En la tabla 5.1 se resume la influencia en los parámetros histológicos del empleo de las diferentes muestras.

Al valorar el score total de los diferentes grupos, el grupo sólo Sutura (26 puntos) obtuvo los peores resultados seguidos por Doble Control (15), Control Alginato (15) y Control Quitina (11) observándose los mejores resultados en el grupo Doble Muestra (8).

Al añadir el transportador obtuvimos un aspecto más parecidos a un tendón normal a nivel histológico comparado con el grupo sólo Sutura al evaluar la matriz, inflamación de la bursa, vascularización, celularidad y el score total. Como se ha descrito previamente tanto el alginato como la quitina, favorecen la adhesión de los fibroblastos (la celularidad) a la vez que promueven la regeneración del colágeno y tienen propiedades antiinflamatorias.

Por lo tanto, los resultados histológicos indicaron una mejoría significativa en la calidad tendinosa de los hombros que tenían transportador, incluso sin rhBMP-2 con respecto a los del

grupo Sutura reparados únicamente con Prolene®. Esto podría estar en relación con dos hechos. Por un lado creemos que el transportador puede proporcionar resistencia a las enzimas responsables de la degeneración tendinosa disminuyendo de alguna manera el proceso inflamatorio y con ello la vascularización, por otro lado, el transportador refuerza la sutura tendinosa proporcionando un apoyo biológico adicional a la sutura. En este sentido la combinación del alginato con la quitina resulta esencial. Hay muchos materiales que pueden emplearse en los procesos de ingeniería tisular pero pocos que reúnan las características idóneas. El transportador que hemos empleado aquí une un material extremadamente biocompatible como es el alginato con otro, la quitina, que ha demostrado una excelente capacidad de adhesión celular en estudios previos (68,133). Se ha visto que aportan una estructura tridimensional con unas características biomecánicas parecidas a la matriz extracelular hasta que las células sean capaces de producirla por sí mismas. Esta capacidad parece estar en relación con la naturaleza catiónica de la quitina que permite interacciones electrostáticas con aniones como glicosaminoglicanos, proteoglicanos, etc... (65). Dichas interacciones sirven como mecanismo para la retención y el reclutamiento de células, factores de crecimiento y citoquinas, lo que convierte a este transportador en un material híbrido ideal en los procesos de ingeniería tisular. Kong y cols. han demostrado que las células mesenquimales de médula ósea son capaces de adherirse a un material de nanofibras de alginato y quitina (67). Por lo tanto, el transportador promueve la proliferación de células mesenquimales y de fibroblastos tanto *in vitro* como *in vivo*. Estas características de los transportadores empleados pueden justificar el hecho de que en nuestro estudio la celularidad de los grupos con transportador sea más similar a la de un tendón normal (tanto en el ítem celularidad como matriz) que la del grupo sólo Sutura.

Otra ventaja adicional es que los fibroblastos que proliferan en este transportador producen principalmente colágeno tipo I que es el colágeno mayoritario en el tendón y ligamento sanos frente al colágeno tipo III que aumenta en tendones y ligamentos lesionados y que además es

biomecánicamente inferior al tipo I. Para aumentar la adhesión de la membrana se ha visto que la aportación de iones de  $\text{Ca}^{2+}$  resulta en una menor absorción de agua y menor riesgo de disolución del transportador (66). Nosotros hemos podido observar una mejor organización de las fibras de colágeno; que se disponían de una forma más paralela con el empleo del transportador, pero no hemos podido comprobar que exista más colágeno tipo I que III dado que no hemos realizado un estudio inmunohistoquímico. La mejora en las características de la matriz las atribuimos a que el transportador empleado actúa como un andamio tridimensional, permitiendo la adhesión de los fibroblastos que además se ve incrementada debido a la inmersión que se realiza del transportador en una solución de cloruro cálcico previo a la implantación.

A pesar de emplear la quitina; que tiene una estructura parecida a un glicosaminoglicano, no vimos mejoras en el ítem de la zona de transición en el grupo donde empleamos el transportador. Pero al combinar el transportador con rhBMP-2 a elevadas concentraciones, las características en la zona de transición mejoraban, lo que atribuimos a la capacidad osteoinductiva de la rhBMP-2. Rodeo y cols. obtuvieron con el empleo de esta proteína un tejido muy parecido a un tendón nativo con fibras de colágeno bien organizadas en la unión osteotendinosa posiblemente, como indicábamos con anterioridad, a través de la estimulación ósea (78). Chen y cols. también consiguieron mejorar la zona de transición en un estudio *in vivo* en conejos tras añadir rhBMP-2 a un hidrogel (134). Describieron además, cómo esto resultó en mejores resultados biomecánicos y parece que en nuestro estudio existe cierta concordancia en cuanto a la mejor regeneración de la unión osteotendinosa y la mayor carga máxima que se observa en el grupo Doble Muestra.

Por lo tanto, las características histológicas del tejido de reparación parecen mejorar cuando se realiza la sutura con transportador, si a éste se le añade además rhBMP-2 mejoran aún más los resultados. Si además se incrementa al doble la concentración de rhBMP-2, podemos observar

como el tejido de reparación obtenido se aproxima bastante al aspecto de un tendón sano a pesar de no llegar a ser exactamente igual. Probablemente esta tendencia a la mejor puntuación obtenida con la adición de mayor concentración de proteína pudiera resultar estadísticamente significativa aumentando el tamaño de la muestra empleada.

Otros autores han podido constatar la influencia de diferentes concentraciones de proteína tanto *in vitro* como *in vivo*. Pauly y cols. detectaron que la actividad celular y la producción de colágeno tipo I *in vitro* varió según la concentración del BMP-2 (100, 500 o 1000 ng/ml): a mayor concentración, menor actividad celular (70). Al comparar los efectos del rhBMP-2 y rhBMP-7 en concentraciones de 200 ng/ml o 1000 ng/ml observaron un aumento de la producción del colágeno tipo I en las concentraciones bajas de rhBMP-2 y disminución del colágeno tipo III en la dosis elevada (79). La rhBMP-7 aumentaba el colágeno tipo I independientemente de la concentración utilizada y la producción de colágeno tipo III se vio aumentada en la concentración alta. Vieron además que los efectos de la rhBMP-2 y rhBMP-7 no variaban con la edad del donante. Zara y cols. realizaron otro estudio *in vivo* valorando el efecto de diferentes concentraciones de BMP-2 en un defecto femoral en ratas (135). Detectaron cómo las dosis bajas (0,375-0,75µg) no fueron capaces de producir una fusión del defecto óseo mientras que las dosis medias (2,25µg) lo fusionaron al igual que a dosis altas (11,25-45 µg) pero en el último grupo la fusión tenía un aspecto quístico y a nivel histológico se visualizaron adipocitos. Las dosis altas produjeron además un infiltrado inflamatorio llamativo. Nosotros empleamos 20µg o 1 mg/ml en Control Alginato y Control Quitina y 40 µg o 2 mg/ml en Doble Muestra y observamos mejores valores de matriz en Doble Muestra y Control Quitina comparado con Control Alginato donde sólo los primeros 2 grupos obtuvieron una diferencia estadísticamente significativa comparado con Sutura. El resultado de la celularidad fue el mismo en los 3 grupos siendo además significativamente mejor que la Sutura. Por lo tanto parece que en cuanto a estos 2 parámetros no observamos unas diferencias entre la concentración baja y la alta.



A nivel histológico se observaron mejores resultados, no significativos, con la concentración alta de rhBMP-2. A nivel biomecánico sí que parece que una mayor concentración de rhBMP-2 produce un tendón que aguanta una mayor carga máxima a la vez que es más elástico.

### **Influencia de la adición de la rhBMP-2 al alginato o a la quitina**

Debido a las diferentes características del alginato y la quitina decidimos probar la adición de la rhBMP-2 a uno u otro transportador.

La quitina tiene una buena porosidad y los estudios previos sobre su liberación controlada de fármacos o liberación genética lo convierten en un transportador idóneo para la rhBMP-2 por la ya comentada estructura de glicosaminoglicano que facilita la interacción con factores de crecimiento (recordad el carácter catiónico de la rhBMP-2) y sus receptores a la vez que podría fomentar la integración ósea (109,110). El alginato en cambio, se degrada más lentamente produciendo por lo tanto, una liberación más prolongada del factor de crecimiento (117). La degradación del transportador es un factor crucial, no sólo para la liberación del factor de crecimiento, sino para la aposición de la matriz, ya que esto va sucediendo en función del espacio que deja el transportador degradado. He y cols. realizaron un estudio *in vitro* para evaluar la liberación de la BMP-2 en un transportador alginato-quitina-hidroxiapatita donde la BMP se había unido al alginato comparado con un transportador de colágeno (121). Observaron que la liberación de la BMP-2 era más duradera, 64% en 7 días comparado con 84% en 7 días. Al probar los mismos transportadores en un estudio *in vivo* en cráneos de ratas observaron que el transportador con alginato y quitina producía una mayor cantidad ósea comparado con el transportador de colágeno. En nuestro estudio realizamos 2 grupos con la misma concentración de BMP-2: Control Quitina (es decir la rhBMP-2 se añade al alginato) y Control Alginato (es decir la rhBMP-2 es añadida a la quitina). Al comparar los resultados el primer grupo obtiene

mejores resultados histológicos en cuanto a la matriz, la vascularización y la degeneración grasa. Los resultados en los parámetros de inflamación y celularidad son iguales, mientras que la zona de transición y la metaplasia condroide tienen mejores valores en el grupo Control Alginato. Ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativas pero parece que el resultado de Control Quitina es algo mejor. Esto podría estar en relación con la mayor biocompatibilidad de la quitina, al ser un glicosaminoglicano se integra más fácilmente que el alginato en la matriz a la vez que permite mayor degradación, y por lo tanto, una mayor biodisponibilidad de la rhBMP-2.

	Sutura	Doble Control	Control Alginato	Control Quitina	Doble Muestra	Afectado por:
<b>Matriz</b>	8	2	3	0	0	Transportador [rhBMP-2]
<b>Zona de transición</b>	2	4	4	5	2	[rhBMP-2]
<b>Inflamación bursa</b>	5	0	0	0	0	Transportador
<b>Vascularización</b>	4	2	1	0	0	rhBMP-2
<b>Celularidad</b>	5	2	0	0	0	Transportador rhBMP-2
<b>Degeneración grasa</b>	0	0	2	0	1	Nada
<b>Metaplasia condroide</b>	2	5	5	6	5	Transportador
<b>Total</b>	26	15	15	11	8	Transportador rhBMP-2 [rhBMP-2]

**Tabla 5.1:** Resumen de lo que parece influir en los valores obtenidos en los diferentes parámetros histológicos de los diferentes grupos y la puntuación total de los grupos. (Transportador=alginato con quitina, rhBMP-2 solo la presencia de rhBMP-2, [rhBMP-2] a mayor concentración de rhBMP-2 mejores resultados).

### 5.2.3 Resultados biomecánicos

A raíz de los resultados obtenidos podemos decir que la reparación tendinosa con una sutura produce un tendón menos resistente (9,33 comparado con 10,67) con menor carga máxima (51,08) que un tendón no intervenido (56,72). Parece que la simple adición del transportador (alginato y quitina) sin la rhBMP-2 produce un aumento de la carga máxima comparado con solo la sutura a expensas de aumentar la resistencia del mismo (mediana 63,05 vs 16,65). Al añadir 20 µg de rhBMP-2 (1mg/ml) la elasticidad del tendón mejora en relación a sólo el transportador (mediana carga máxima 56,95 N Control Alginato y 52,35 N Control Quitina y  $k=16,05$  vs 12,20). Cuando aumentamos la concentración de rhBMP-2 (40µg o 2mg/ml), grupo Doble Muestra, obtenemos un aumento de la carga máxima comparado con estos 2 grupos hasta llegar casi a los valores de Doble Control (61,60) a la vez que aumenta la elasticidad (12,55). Este grupo es el que presenta mejores resultados si además se tiene en cuenta la homogeneidad de los mismos. Por lo tanto, parece que el grupo Doble Muestra produce un tendón que aguanta más carga antes de romperse a la vez que crea un tendón más elástico con unos resultados que además son más predecibles.

Comparando Control Quitina con Control Alginato parece que a nivel biomecánico el Control Alginato da unos resultados más homogéneos a nivel de carga máxima donde además alcanza valores algo mejores mientras que en la constante elástica sucede lo contrario, lo que quiere decir que se trata de un tendón más elástico y capaz de soportar fuerzas superiores antes de su fallo. Al igual que a nivel histológico, Control Quitina obtuvo resultados levemente mejores que Control Alginato, pero ninguna de estas diferencias fueron significativas. Biomecánicamente la resistencia de los tendones reparados con transportador y proteína morfogenética resulta inferior a la del resto de los grupos (aunque de manera significativa sólo con respecto al grupo Sutura).

Esto se justifica por la presencia de una mayor elasticidad en los tendones que contienen rhBMP-2. Al incrementarse la deformación por la mayor elasticidad el resultado del cociente carga/deformidad, que es a lo que corresponde la resistencia, disminuye. Entre dos materiales con la misma carga máxima en el punto de rotura es más frágil el que presente menor deformidad antes de romperse y, por lo tanto, el que menos energía haya absorbido antes de la rotura. Por lo que contrariamente pueda parecer al evaluar los resultados los tendones reparados con el transportador y rhBMP-2 resultaban más elásticos y por lo tanto tardan más en romperse.

Los efectos beneficiosos del empleo de la rhBMP-2 en las características histológicas y biomecánicas del tendón han sido observados por otros autores. Pelled G y cols. analizaron la histología y biomecánica del tendón de Aquiles en ratones tratados con cirugía y compuestos BMP-2 y la proteína intracelular SMAD8 (78). El análisis histológico reveló una mejor distribución celular y una mayor recuperación funcional del grupo tratado con ambos compuestos. De igual manera Kim y cols. consiguen mejorar la reparación a nivel de la unión óseotendinosa introduciendo BMP-2 vehiculizada en colágeno en el sitio de inserción de los anclajes destinados a la reparación del tendón patelar de conejos (136). Con la adición de la proteína, no sólo se conseguía mejorar las características histológicas de la reparación sino que además se incrementaba considerablemente la fortaleza mecánica de la misma y la densidad ósea. Chen y cols. emplearon células procedentes de periostio junto con BMP-2 vehiculizadas en un hidrogel (polietilenglicol diacrilato) y comprobaron que, a las 8 semanas se incrementaba la formación de fibrocartílago y hueso en la unión oseotendinosa en lesiones del manguito rotador en conejos (134). Con técnicas de inmunohistoquímica se evidenció la presencia de agregano y colágeno tipo II y con estudios biomecánicos se observó un incremento de la carga máxima. La única duda que nos queda en este estudio es cuánto atribuir a cada uno de los elementos empleados en la ingeniería de tejidos.

La contribución de las células al proceso reparador, aunque no es el objetivo de nuestro estudio, sigue siendo motivo de controversia. Mientras que hay autores que han podido constatar cómo su empleo mejoraba la carga máxima que es capaz de soportar el tendón, para otros su utilización no recrea la organización celular de la entesis ni mejora las propiedades biomecánicas de la misma (58,137). Probablemente la combinación de células y factores de crecimiento que guíen los procesos de diferenciación tisular en el sentido adecuado constituyan la base de futuros estudios.

# VI. CONCLUSIONES

---

- 1- El modelo animal de lesión de manguito rotador empleado mediante la sección del tendón supraespinoso en la rata no conduce a la reparación espontánea a las 4 semanas de su creación.
- 2- La reparación del tendón supraespinoso con sutura monofilamento polipropileno (Prolene®) no alcanzó en ningún momento las características histológicas ni biomecánicas de los tendones utilizados como control.
- 3- La adición del transportador a la sutura ocasiona por sí solo una mejoría de los resultados totales de la calidad del tejido reparador frente a la sutura aislada. Esta mejora histológica se ve reflejada en los resultados biomecánicos observándose un tendón que es más elástico y aguanta una mayor carga máxima.
- 4- Los resultados obtenidos por los grupos con rhBMP-2 resultan ser superiores histológica- y biomecánicamente y estas propiedades parecen ser dosis-dependientes.
- 5- No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre la adición de la rhBMP-2 al alginato o a la quitina, aunque los resultados histológicos con esta última resultan ligeramente superiores.
- 6- Aunque las propiedades biomecánicas e histológicas del tendón mejoran con el empleo del transportador y con rhBMP-2, en ningún caso llegan a ser iguales que las del hombro control.

VII.

LIMITACIONES  
DEL ESTUDIO Y  
DIRECTRICES  
FUTURAS

---



## 7.1 Limitaciones del estudio

El trabajo realizado cuenta con varias limitaciones.

La incapacidad de controlar el grado de retracción tendinosa tras la generación de la lesión crónica ha condicionado la tasa de rerroturas encontradas en cada grupo sesgando de alguna manera los resultados obtenidos. A pesar de realizar estas lesiones en ratas de la misma raza, sexo y edad y por el mismo cirujano, las rerroturas encontradas estaban en relación directa con el grado de retracción resultando ser independientes del transportador empleado.

Como en la mayor parte de los estudios experimentales el tamaño muestral podría considerarse una limitación del estudio. Un incremento en el número de animales podría ayudar a encontrar diferencias estadísticamente significativas en determinados parámetros.

La ausencia del empleo de técnicas de inmunohistoquímica que permitan determinar la relación entre el colágeno tipo I y el colágeno tipo III hace que la evaluación de la calidad del tejido reparador no resulte del todo completa.

La evaluación histológica empleada cuenta con la desventaja de que ciertos parámetros son objetivos pudiendo por lo tanto existir cierta variabilidad entre el corte y la zona tendinosa que se escoja para la evaluación. Para minimizar este sesgo empleamos 2 evaluadores, y en caso de existir discordancia entre los resultados reevaluaron la muestra conjuntamente para así decidir la puntuación definitiva.

## 7.2 Objetivos alcanzados y directrices futuras

Los procedimientos de ingeniería tisular y su traslación a modelos *in vivo* son actuaciones que conllevan un alto grado de complejidad, por ello, no es sorprendente que aún con el nivel de desarrollo biotecnológico actual estos procedimientos no sean rutinarios en la práctica clínica diaria y que incluso los disponibles en la actualidad presenten dudas sobre su adecuada relación coste beneficio.

Los obstáculos que surgen durante estos procedimientos son muchos, algunos de ellos experimentados durante el desarrollo de esta tesis doctoral son: la variabilidad en la síntesis de alguno de los compuestos; las posibles modificaciones de su comportamiento biológico al combinarlos; la irregular extrapolación de los resultados *in vitro* a los modelos *in vivo*; la actuación lugar-dependiente en los sistemas biológicos; los derivados de la propia actuación quirúrgica en animales de características morfológicas diferentes al ser humano.

A pesar de todo lo anterior, la culminación de este trabajo creemos que aporta mucho al equipo investigador. Por un lado, la amplia experiencia adquirida en procedimientos variados incorporados a nuestro armamento científico: manejo de matrices, factores de crecimiento caracterizados *in vitro* para su posterior traslado al sistema biológico. Por otro, la capacidad de modificar el diseño original del estudio para obtener una adecuada evaluación de los resultados (estudios biomecánicos).

El transportador alginato-quitina ha demostrado ser un excelente vehículo de transporte de factores de crecimiento, además de presentar una excelente biocompatibilidad como ha quedado patente en el estudio. Su manejo resulta cómodo para el cirujano facilitando la aplicación sobre los defectos reparados. A pesar de estas ventajas; la dificultad de restaurar una zona de lesión que implica a dos elementos (hueso y tendón) resulta evidente.

Son muchos los objetivos pendientes. Hemos partido de unos grupos experimentales elaborados con criterios inicialmente empíricos apoyados en la literatura existente y en nuestra propia experiencia previa con estos transportadores y proteínas morfogenéticas. Es el momento de ir restringiendo el foco de nuestras actuaciones y de abrir otras emergentes. Probablemente el empleo de células modificadas genéticamente para la producción de las señales que generen el microambiente más favorable para el proceso de reparación constituya la futura línea de investigación en los procesos de ingeniería tisular.

# VIII. RESUMEN

---

## **8.1 Resumen**

### **8.1.1 Introducción**

Las roturas del manguito rotador afectan aproximadamente al 30% de la población mayor de 60 años. Aunque algunos estudios abogan por el tratamiento conservador de las roturas completas, el tratamiento más empleado es la reparación quirúrgica. Sin embargo, a pesar de los buenos resultados clínicos y de los avances técnicos que incrementan la fortaleza mecánica de la sutura, se recogen porcentajes de rerrotura tras su reparación que oscilan entre un 16% y un 94% según las series.

Este hecho nos lleva a buscar otro tipo de estrategias biológicas destinadas a mejorar dicha reparación. El empleo de transportadores que vehiculicen factores de crecimiento es uno de los pilares en los procesos de ingeniería tisular. La familia de las Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMP) son los factores de crecimiento con capacidades osteoinductivas más potentes y hay varios estudios que sugieren beneficios de estos en el tratamiento de las lesiones del manguito rotador mejorando las propiedades biomecánicas y favoreciendo la diferenciación tendinosa. Así mismo, son muchos los biomateriales que se han probado con la finalidad de promover la reparación de las lesiones, incrementar la fortaleza mecánica de la sutura y actuar como transportadores de factores de crecimiento y/o células.

### **8.1.2 Hipótesis y objetivos**

Nuestro objetivo es determinar si el empleo de rhBMP-2 vehiculizada en un transportador de alginato con quitina mejora el proceso de reparación en lesiones crónicas del manguito rotador, tanto histológica- como biomecánicamente, además de valorar si esta respuesta es dosis-dependiente.

### **8.1.3 Material y método**

Se realizó un estudio experimental en 64 ratas de 8 meses de edad en las que se generó una lesión crónica del tendón supraespinoso. A las 4 semanas de la misma se procedió a su reparación mediante una sutura transósea y a la asignación aleatoria a uno de los cinco grupos de estudio: I) Grupo Sutura: sólo sutura; II) Grupo Doble Control: se aplicó además un transportador de alginato con quitina; III) Grupo Control Alginato: se añadió rhBMP-2 al alginato solidificándolo posteriormente con la quitina; IV) Grupo Control Quitina: la rhBMP-2 se añadió a la quitina; V) Grupo Doble Muestra: se añadió rhBMP-2 a ambos componentes. A los 4 meses se evaluaron los resultados macroscópicamente y mediante estudios biomecánicos (carga máxima y rigidez) e histológicos (matriz, inflamación de la bursa, celularidad, metaplasia condroide, vascularización, transición osteotendinosa y degeneración grasa).

### **8.1.4 Resultados**

En todos los casos se observó un espacio osteotendinoso macroscópico a las 4 semanas de la sección tendinosa. La reparación se realizó de forma satisfactoria salvo en 5 casos donde fue a tensión. La tasa de rerrotura fue del 7,5%, correspondiéndose con los casos de sutura a tensión: 2 en el grupo Sutura, 2 en Control Alginato y 1 en Control Quitina.

En la evaluación histológica los mejores resultados se obtuvieron en el grupo Doble Muestra con un total de 8 puntos (a menor puntuación mejores resultados), seguido de Control Quitina (11), Control Alginato (15), Doble Control (15) y Sutura (26). Esta diferencia fue estadísticamente significativa al comparar Doble Control con Sutura ( $p=0,034$ ), Control Quitina con Sutura ( $p=0,009$ ) y Doble Muestra con Sutura ( $p=0,010$ ).

A nivel biomecánico la carga máxima soportada: Doble Muestra con una mediana de 61,60 N (rango 59,80-69,40), Doble Control 63,05 N (33,30-87,80), Control Alginato 56,95 N (44,90-65,10), Control Quitina 52,35 N (21,90-70,80) y Sutura 51,08 N (30,06-79,67). Esta diferencia fue estadísticamente significativa al comparar el grupo Sutura con Doble Muestra ( $p=0,025$ ).

En cuanto a los resultados de la resistencia cabe destacar que a mayor valor menos elasticidad: Sutura 9,33 N/mm (rango 5,33-14,13), Doble Muestra 12,55 N/mm (9,70-15,90), Control Quitina 12,20 N/mm (7,20-21,00), Control Alginato 16,05 N/mm (6,00-21,80) y Doble Control 16,65 N/mm (10,00-20,10). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas al comparar Doble Control con Sutura ( $p=0,009$ ), Control Alginato con Sutura ( $p=0,034$ ) y Doble Muestra con Sutura ( $p=0,034$ ).

Teniendo en cuenta los 2 parámetros biomecánicos podemos observar como Doble Muestra, además de ser el grupo que presenta los resultados más homogéneos, también presenta muy buenos valores en cuanto a una carga máxima (mediana 61,60). La elasticidad de Doble Muestra 12,55 N/mm (9,70-15,90) se ve superada solo por el grupo Sutura (mediana 9,33, rango: 5,33-14,13) que es incluso menos resistente que un hombro no intervenido además de tener mayor dispersión y peor carga máxima (mediana 57,08).

### **8.1.5 Conclusiones**

Obtuvimos una mejor regeneración tendinosa en todos los grupos con transportador comparado con el grupo de Sutura aislada y cuando el transportador se asocia a rhBMP-2 estos resultados mejoran. La mayor concentración de rhBMP-2 mejora las características histológicas y biomecánicas del tendón reparado. No se detectaron diferencias entre el grupo Control Alginato y Control Quitina lo que sugiere la ausencia de diferencias significativas bioquímicas en relación a la unión de la proteína morfogenética a uno u otro componente del transportador híbrido. La

mayor tasa de rerroturas encontradas en el grupo Control Alginato, se atribuyen a la presencia en este grupo de un mayor número de suturas a tensión en relación a una mayor retracción del tendón al crear el modelo de lesión crónica y no a las características del transportador en sí.

El empleo de la rhBMP-2 vehiculizada en un transportador híbrido de alginato-quitina mejora las características histológicas de la reparación y además consigue incrementar las propiedades biomecánicas del mismo en el contexto de una lesión crónica del manguito rotador sin llegar a alcanzar los valores de un tendón sano.

## **8.2 Summary**

### **8.2.1 Introduction**

Rotator cuff tears can be found in around 30% of the population above 60 years. Even though some studies suggest a conservative treatment, surgery is the most common treatment of complete rotator cuff tears. However, despite good clinical results and technological improvements to augment the strength of the suture, the incidence of rerupture has been reported to be between 16% and 94%.

We are therefore obliged to search other biological strategies to further enhance the reparation such as scaffolds that can be used to release growth factors. The family of the Bone Morphogenetic Proteins (BMP) are one of the most osteoinductive growth factors and several studies suggest benefits of these in the treatment of rotator cuff tears. They would provide better biomechanical properties as well as promote the formation and differentiation of tendon tissue. Many biomaterials have been used to try to enhance the reparation of the rotator cuff lesions, to



augment the mechanical strength of the suture and to act as a transporter of growth factors and/or cells.

### **8.2.2 Hypothesis and objectives**

Our objectives are to determine whether the use of a scaffold of alginate and chitin in combination with rhBMP-2 can improve the reparation process of chronic rotator cuff tears both histologically and biomechanically. We would also like to evaluate if these responses are dose-dependant.

### **8.2.3 Material and methods**

An experimental study with 64 8-months-old rats was performed. 4 weeks after the production of the chronic lesion it was repaired with a transosseous suture and the rats were randomised into 5 groups: I) Suture Group: only suture; II) Double Control Group: a scaffold of alginate and chitin was added; III) Alginate Control Group: rhBMP-2 was added to the alginate before its solification with the chitin; IV) Chitin Control Group: the rhBMP-2 was added to the chitin; V) Double Sample Group: rhBMP-2 was added to both components. 4 months after the reparation the results were evaluated macroscopically, biomechanically (maximal strength and elasticity) and histologically (collagen matrix, bursal inflammation, cellularity, chondroid metaplasia, vascularization, osteotendinous transition zone and fatty degeneration).

### **8.2.4 Results**

In all cases a macroscopic osteotendinous gap was observed 4 weeks after the tendon section. The reparation was satisfactory in all but 5 where it was performed with a suture that was under excessive tension. The rate of rerupture was 7,5%, all of them corresponded to the cases where

the reparation was performed with an excessive tensioned suture: 2 belonged to the group Suture, 2 to Control Alginate and 1 to Control Chitin.

As to the histological evaluation the best results were observed in Double Sample with a total of 8 points (the less score the better results), followed by Chitin Control (11), Alginate Control (15), Double Control (15) and Suture (26). This difference was statistically significant when comparing Double Control with Suture ( $p=0,034$ ), Chitin Control with Suture ( $p=0,009$ ) and Double Sample with Suture ( $p=0,010$ ).

Biomechanically the results of the maximal strength were as follows: the median of Double Sample was 61,60 N (range 59,80-69,40), Double Control 63,05 N (33,30-87,80), Alginate Control 56,95 N (44,90-65,10), Chitin Control 52,35 N (21,90-70,80) and Suture 51,08 N (30,06-79,67). A statistically significant difference was found between the groups Suture and Double Sample ( $p=0,025$ ).

When comparing the results of elasticity it is important to recall that a higher value equals less elasticity: Suture 9,33 N/mm (range 5,33-14,13), Double Sample 12,55 N/mm (9,70-15,90), Chitin Control 12,20 N/mm (7,20-21,00), Alginate Control 16,05 N/mm (6,00-21,80) and Double Control 16,65 N/mm (10,00-20,10). These differences were statistically significant when comparing Double Control with Suture ( $p=0,009$ ), Alginate Control with Suture ( $p=0,034$ ) and Double Sample with Suture ( $p=0,034$ ).

If both biomechanical parameters are considered, Double Sample presents good results in maximal strength (median 61,60 N) at the same time as the results are more homogenous than the other groups. The elasticity of Double Sample 12,55 N/mm (9,70-15,90 N) is only inferior to Suture (median 9,33, range 5,33-14,13) that is even less resistant than a non operated shoulder. The Suture group also presents very dispersed values and a worse maximal strength (median 57,08 N).

### **8.2.5 Conclusions**

We observed a better regeneration of the supraspinatus tendon in all groups treated with suture and scaffold when compared to the group that was only treated with a suture. When the scaffold was associated with rhBMP-2 these results seem to improve. A higher concentration of rhBMP-2 meliorates the histological and biomechanical aspects of the repaired tendon even further. No differences were detected between Alginate Control and Chitin Control which suggests that there are no significant biochemical differences as to the union of the BMP to either component of this hybrid scaffold. The higher rate of reruptures in Alginate Control are attributed to more cases with a suture under tensión due to a greater tendón retraction when creating the model of a chronic lesion rather than the characteristics of the scaffold itself.

The use of the rhBMP-2 within a hybrid scaffold of alginate-chitin improves the histological aspect of the reparation as well as the biomechanical characteristics of the tendon when applied in a chronic lesion of the rotator cuff tear even though it never reaches the same values as a healthy tendon.

# IX. BIBLIOGRAFÍA

---

## 9.1 Por orden de aparición en el texto

1. Khan Y, Nagy MT, Malal J, Waseem M. The painful shoulder: shoulder impingement syndrome. *Open Orthop J.* 2013;7:347–51.
2. Fam A, Lawry G, Kreder H. Fam's musculoskeletal examination and joint injection techniques. 2<sup>o</sup> ed. Filadelfia: Elsevier; 2010. p 12-22.
3. Beltran J, Bencardino J, Mellado J, Rosenberg Z, Irish R. MR arthrography of the shoulder: variants and pitfalls. *Radiographics.* 1997;17(6):1403–12.
4. Galatz LM, Sandell LJ, Rothermich SY, Das R, Mastny A, Havlioglu N, et al. Characteristics of the rat supraspinatus tendon during tendon-to-bone healing after acute injury. *J Orthop Res.* 2006;24(3):541–50.
5. Terry G, Chopp T. Functional anatomy of the shoulder. *J Athl Train.* 2000;35(3):248–55.
6. Di Giacomo G, Pouliart N, Constantini A, De Vita A. Atlas of functional shoulder anatomy. Milán: Springer; 2008. p 29-96.
7. Codman E, Akerson I. The pathology associated with rupture of the supraspinatus tendon. *Ann Surg.* 1931;93(1):348–59.
8. Weinreb JH, Sheth C, Apostolakos J, McCarthy MB, Cote MP, Mazzocca AD. Tendon structure, disease, and imaging. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4(1):66–73.
9. Kannus P. Structure of the tendon connective tissue. *Scand J Med SCI Sport.* 2000;10(6):312–20.
10. Hodgson RJ, O'Connor PJ, Grainger AJ. Tendon and ligament imaging. *Br J Radiol.* 2012;85(1016):1157–72.
11. Edwards SL, Lynch TS, Saltzman MD, Terry MA, Nuber GW. Biologic and pharmacologic augmentation of rotator cuff repairs. *J Am Acad Orthop Surg.* 2011;19(10):583–9.
12. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Jt Surg Am.* 2005;87(1):187–202.
13. Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. 2006;6(2):181–90.
14. Escamilla RF, Yamashiro K, Paulos L, Andrews JR. Shoulder muscle activity and function in common shoulder rehabilitation exercises. *Sport Med.* 2009;39(8):663–85.
15. Wildemann B, Klatte F. Biological aspects of rotator cuff healing. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2011;1(4):161–8.
16. Oliva F, Piccirilli E, Bossa M, Via A, Colombo A, Chillemi C, et al. Rotator cuff guidelines. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2016;5(4):227–63.
17. Bentley G. European surgical orthopaedics and traumatology. Springer: London; 2014. p 861-1104.
18. Lopiz Y, Garcia-Fernandez C, Vega ML, Marco F. Evaluacion clinico-ecografica de la reparacion quirurgica de las roturas del manguito rotador. *Trauma Fund Mapfre.* 2010;21(2):91–6.
19. Rees JL. The pathogenesis and surgical treatment of tears of the rotator cuff. *J Bone Jt Surg Br.* 2008;90(7):827–32.
20. Barclay F, Arcuri F, Paparatto A. Manguito rotador: Histología de la normalidad a la patología. *Artroscopia.* 2011;18(1):30–6.
21. Balke M, Schmidt C, Dedy N, Banerjee M, Bouillon B, Liem D. Correlation of acromial morphology with impingement syndrome and rotator cuff tears. *Acta Orthop.* 2013;84(2):178–83.

22. Sammarco V. Os acromiale: frequency, anatomy, and clinical implications. *J Bone Jt Surg Am.* 2000;82(3):394–400.
23. Thomopoulos S, Parks WC, Rifkin DB, Derwin KA. Mechanisms of tendon injury and repair. *J Orthop Res.* 2015;33(6):832–9.
24. Valencia Mora M, Ruiz Ibán M, Díaz Heredia J, Barco Laakso R, Cuéllar R, García Arranz M. Stem cell therapy in the management of shoulder rotator cuff disorders. *World J Stem Cells.* 2015;7(4):691–9.
25. Bunker DLJ, Ilie V, Ilie V, Nicklin S. Tendon to bone healing and its implications for surgery. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4(3):343–50.
26. McCormack R, Shreve M, Strauss E. Biologic augmentation in rotator cuff repair should we do it, who should get it, and has it worked? *Bull Hosp Jt Dis.* 2014;71(1):89–96.
27. Lorbach O, Tompkins M, Anagnostakos K. Pathogenesis of rotator cuff tears, implications on treatment. En: *Sports Injuries: Prevention, Diagnosis, Treatment and Rehabilitation.* 2° ed. Berlin: Springer; 2013. p 1–14.
28. Tashjian R. Epidemiology, natural history, and indications for treatment of rotator cuff tears. *Clin Sport Med.* 2012;31(4):589–604.
29. Loew M, Magosch P, Lichtenberg S, Habermeyer P, Porschke F. How to discriminate between acute traumatic and chronic degenerative rotator cuff lesions: an analysis of specific criteria on radiography and magnetic resonance imaging. *J Shoulder Elb Surg.* 2015;24(11):1685–93.
30. Snyder S. Rotator cuff lesions. Acute and chronic. *Clin Sport Med.* 1991;10(3):595–614.
31. Patte D. Classification of rotator cuff lesions. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;254:81–6.
32. Habermeyer P, Magosch P, Lichtenberg S. Classifications of rotator cuff. En: Walch G, Boileau P. *Classifications and scores of the shoulder.* Berlin: Springer; 2006.
33. Ellman H. Diagnosis and treatment of incomplete rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;254:64–74.
34. Gartsman GM. *Gartsman shoulder arthroscopy*, 2nd edition. Houston: Saunders; 2009. p 233–278.
35. Goutallier D, Postel J, Bernageau J, Lavau L, Voisin M. Fatty muscle degeneration in cuff ruptures: pre- and postoperative evaluation by CT scan. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;304:78–83.
36. Cho N, Lee B, Rhee Y. Arthroscopic rotator cuff repair using a suture bridge technique: is the repair integrity actually maintained? *Am J Sport Med.* 2011;39(10):2108–16.
37. Gadstone J, Bishop J, Lo I, Flatow E. Fatty infiltration and arthropathy of the rotator cuff do not improve after rotator cuff repair and correlate with poor functional outcome. *Am J Sport Med.* 2007;35(5):719–28.
38. Goutallier D, Postel J, Gleyze P, Leguilloux P, Van Driessche S. Influence of cuff muscle fatty degeneration on anatomic and functional outcomes after simple suture of full-thickness tears. *J Shoulder Elb Surg.* 2003;12(6):550–4.
39. Shen P, Lien S, Shen H, Lee C, Wu S, Lin L. Long-term functional outcomes after repair of rotator cuff tears correlated with atrophy of the supraspinatus muscles on magnetic resonance images. *J Shoulder Elb Surg.* 2008;17(1 Suppl):1S–7S.
40. Gomoll A, Katz J, Warner J, Millet P. Rotator cuff disorders. *Arthritis Rheum.* 2004;50(12):3751–61.
41. Le Corroller T, Cohen M, Asward R, Pauly V, Champsaur P. Sonography of the painful shoulder: role of the operator's experience. *Skelet Radiol.* 2008;37(11):979–86.
42. Hodge J. *Musculoskeletal procedures: diagnostic and therapeutic.* 2° ed. Georgetown: CRC press; 2003. p 12–28.
43. Longo UG, Berton A, Papapietro N, Maffulli N, Denaro V. Epidemiology, genetics and biological factors of rotator cuff tears. *Med Sport Sci.* 2012;57:1–9.

44. Itoi E. Rotator cuff tear: physical examination and conservative treatment. *J Orthop Sci.* 2013;18(2):197–204.
45. Hegedus E, Goode A, Campbell S, Morin A, Tamaddoni M, Oorman C, et al. Physical examination tests of the shoulder: a systematic review with meta-analysis of individual tests. *Br J Sport Med.* 2008;42(2):80–92.
46. García Parra P, Anaya Rojas M, Jiménez Bravo B, González Oria M, Muñoz Lisbona M, Gil Álvarez J, et al. Correlación entre la exploración física y los hallazgos intraoperatorios de patología de hombro tratada mediante artroscopia. Análisis estadístico de 150 pacientes. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol.* 2016;60(5):306–14.
47. Desmeules F, Boudreault J, Roy J, Dionne C, Frémont P, Macdermid JC. The efficacy of therapeutic ultrasound for rotator cuff tendinopathy: A systematic review and meta-analysis. *Phys Ther Sport.* 2015;16(3):276–84.
48. Kukkonen J, Joukainen A, Lehtinen J, Mattila K, Touminen E, Kauko T, et al. Treatment of nontraumatic rotator cuff tears: a randomized controlled trial with two years of clinical and imaging follow-up. *J Bone Jt Surg Am.* 2015;97(21):1729–37.
49. Shane J, Shindle M, Sherman S, Freedman K, Lyman S, MacGillivray D. Systematic review of arthroscopic rotator cuff repair and mini-open rotator cuff repair. *J Bone Jt Surg Am.* 2007;89:127–36.
50. Davis AD, Kakar S, Moros C, Kaye E, Schepsis A, Voloshin I. Arthroscopic versus open acromioplasty: a meta-analysis. *Am J Sport Med.* 2010;38(3):613–8.
51. McCormick F, Gupta A, Bruce B, Harris J, Abrams G, Wilson H, et al. Single-row, double-row, and transosseous equivalent techniques for isolated supraspinatus tendon tears with minimal atrophy: A retrospective comparative outcome and radiographic analysis at minimum 2-year followup. *Int J Shoulder Surg.* 2014;8(1):15–20.
52. Carbonel I, Martinez AA, Calvo A, Ripalda J, Herrera A. Single-row versus double-row arthroscopic repair in the treatment of rotator cuff tears: A prospective randomized clinical study. *Int Orthop.* 2012;36(9):1877–83.
53. Ono Y, Woodmass J, Nelson A, Boorman R, Thornton G, Lo I. Knotless anchors with sutures external to the anchor body may be at risk for suture cutting through osteopenic bone. *Bone Jt Res.* 2016;5(6):269–75.
54. Galland A, Airaudi S, Gravier R, Le Cann S, Chabrand P, Argenson JN. Pullout strength of all suture anchors in the repair of rotator cuff tears: A biomechanical study. *Int Orthop.* 2013;37(10):2017–23.
55. Gerber C, Schneeberger A, Beck M, Schlegel U. Mechanical strength of repairs of the rotator cuff. *J Bone Jt Surg Br.* 1994;76(3):371–80.
56. Hurwit D, Fanton G, Tella M, Behn A, Hunt K. Viscoelastic properties of common suture material used for rotator cuff repair and arthroscopic procedures. *Arthroscopy.* 2014;30(11):1406–12.
57. Hakimi O, Chaudhury S, Murphy R, Carr A. Differential growth on sutures of tendon cells derived from torn human rotator cuff. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012;100(3):685–92.
58. Tornero-Esteban P, Hoyas JA, Villafuertes E, Rodríguez-Bobada C, López-Gordillo Y, Rojo FJ, et al. Efficacy of supraspinatus tendon repair using mesenchymal stem cells along with a collagen I scaffold. *J Orthop Surg Res.* 2015;14(10):124.
59. Cukierman E, Pankov R, Yamada K. Cell interactions with three-dimensional matrices. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14(5):633–9.
60. Ricchetti E, Aurora A, Iannotti J, Derwin K. Scaffold devices for rotator cuff repair. *J Shoulder Elb Surg.* 2012;21(2):251–65.
61. Walton J, Bowman N, Khatib Y, Linklater J, Murrell GA. Restore orthobiologic implant: not recommended for augmentation of rotator cuff repairs. *J Bone Jt Surg Am.*

- 2007;89(4):786–91.
62. Cheung E, Silverio L, Sperling J. Strategies in biologic augmentation of rotator cuff repair: a review. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(6):1476–84.
63. Baker A, McCarron J, Ran C, Iannotti J, Derwin K. Does augmentation with a reinforced fascia patch improve rotator cuff repair outcomes? *Clin Orthop Relat Res*. 2012;470(9):2513–21.
64. Cho C, Lee S, Lee Y, Shin H. Mini-open suture bridge repair with porcine dermal patch augmentation for massive rotator cuff tear: surgical technique and preliminary results. *Clin Orthop Surg*. 2014;6(3):329–35.
65. Madihally S, Matthew H. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*. 1999;20(12):1133–42.
66. Wang L, Khor E, Lim L. Chitosan - Alginate - CaCl<sub>2</sub> system for membrane coat application. *J Pharm Sci*. 2001;90(8):1134–42.
67. Kong Y, Xu R, Barabi M, Zhong W, Luo G, Xing M, et al. Fast and safe fabrication of a free-standing chitosan/alginate nanomembrane to promote stem cell delivery and wound healing. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:2543–55.
68. Majima T, Funakosi T, Iwasaki N, Yamane ST, Harada K, Nonaka S, et al. Alginate and chitosan polyion complex hybrid fibers for scaffolds in ligament and tendon tissue engineering. *J Orthop Sci*. 2005;10(3):302–7.
69. Würigler-Hauri C, Dourte L, Baradet T, Williams G, Soslowsky L. Temporal expression of 8 growth factors in tendon-to-bone healing in a rat supraspinatus model. *J Shoulder Elb Surg*. 2007;16(5 suppl):S198–203.
70. Pauly S, Klatte F, Strobel C, Schmidmaier G, Greiner S, Scheibel M, et al. BMP-2 and BMP-7 affect human rotator cuff tendon cells in vitro. *J Shoulder Elb Surg*. 2012;21(4):464–73.
71. Fu S, Wong Y, Chan B, Pau H, Cheuk Y, Lee K, et al. The roles of bone morphogenetic protein (BMP) 12 in stimulating the proliferation and matrix production of human patellar tendon fibroblasts. *Life Sci*. 2003;72(26):2965–74.
72. Lou J, Tu Y, Burns M, Silva M, Manske P. BMP-12 gene transfer augmentation of lacerated tendon repair. *J Orthop Res*. 2001;19(6):1199–202.
73. Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sport Med*. 2003;33(5):381–94.
74. Seeherman H, Archambault J, Rodeo S, Turner A, Zekas L, D’Augusta D, et al. rhBMP-12 accelerates healing of rotator cuff repairs in a sheep model. *J Bone Jt Surg Am*. 2008;90(10):2206–19.
75. Thomopoulos S, Harwood FL, Silva MJ, Amiel D, Gelberman RH. Effect of several growth factors on canine flexor tendon fibroblast proliferation and collagen synthesis in vitro. *J Hand Surg Am*. 2005;30(3): 441–47.
76. Wong Y, Fu S, Cheuk Y, Lee K, Wong M, Chan K. Bone morphogenetic protein 13 stimulates cell proliferation and production of collagen in human patellar tendon fibroblasts. *Acta Orthop*. 2005;76(3):421–7.
77. Ross D, Maerz T, Kurdziel M, Hein J, Doshi S, Bedi A, et al. The effect of granulocyte-colony stimulating factor on rotator cuff healing after injury and repair. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(5):1655–64.
78. Rodeo SA, Potter H, Kawamura S, Turner A, Kim H, Atkinson B. Biologic augmentation of rotator cuff tendon-healing with use of a mixture of osteoinductive growth factors. *J Bone Jt Surg Am*. 2007;89(11):2485–97.
79. Klatte-Schulz F, Pauly S, Scheibel M, Greiner S, Gerhardt C, Hartwig J, et al. Characteristics and stimulation potential with BMP-2 and BMP-7 of tenocyte-like cells isolated from the rotator cuff of female donors. *PLoS One*. 2013;8(6):1–13.



80. Blitz E, Viukov S, Sharir A, Shwartz Y, Galloway J, Pryce B, et al. Bone ridge patterning during musculoskeletal assembly is mediated through SCX regulation of Bmp4 at the tendon-skeleton junction. *Dev Cell*. 2009;17(6):861–73.
81. Isaac C, Gharaibeh B, Witt M, Wright V, Huard J. Biologic approaches to enhance rotator cuff healing after injury. *J Shoulder Elb Surg*. 2012;21(2):181–90.
82. Redler L, Thompson S, Hsu S, Ahmad C, Levine W. Platelet-rich plasma therapy: a systematic literature review and evidence for clinical use. *Phys Sport*. 2011;39(1):42–51.
83. Dhillon R, Schwarz E, Maloney M. Platelet-rich plasma therapy - future or trend? *Arthritis Res Ther*. 2012;14(4):219.
84. Randelli P, Randelli F, Ragone V, Menon A, D'Ambrosi R, Cucchi D, et al. Regenerative medicine in rotator cuff injuries. *Biomed Res Int*. 2014;2014:129515. doi: 10.1155/2014/129515.
85. Kelly B, Proffen B, Haslauer C, Murray M. Platelets and plasma stimulate sheep rotator cuff tendon tenocytes when cultured in an extracellular matrix scaffold. *J Orthop Res*. 2016;34:623–9.
86. Flury M, Rickenbacher D, Schwyzer H, Jung C, Schneider M, Stahnke K, et al. Does pure platelet-rich plasma affect postoperative clinical outcomes after arthroscopic rotator cuff repair? A randomized controlled trial. *Am J Sport Med*. 2016;44(8):2136–46.
87. Omi R, Gingery A, Steinmann S, Amadio P, An K, Zhao C. Rotator cuff repair augmentation in a rat model that combines a multilayer xenograft tendon scaffold with bone marrow stromal cells. *J Shoulder Elb Surg*. 2016;25(3):469–77.
88. Hernigou P, Flouzat Lachaniette C, Delambre J, Zilber S, Duffiet P, Chevallier N, et al. Biologic augmentation of rotator cuff repair with mesenchymal stem cells during arthroscopy improves healing and prevents further tears: a case-controlled study. *Int Orthop*. 2014;38(9):1811–8.
89. Chen H, Su Y, Chan T, Su Y, Syu W, Harn H, et al. Human adipose-derived stem cells accelerate the restoration of tensile strength of tendon and alleviate the progression of rotator cuff injury in a rat model. *Cell Transpl*. 2015;24(3):509–20.
90. Cheng B, Ge H, Zhou J, Zhang Q. TSG-6 mediates the effect of tendon derived stem cells for rotator cuff healing. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(2):247–51.
91. Giannoudis P, Tzioupis C, Tsiridis E. Gene therapy in orthopaedics. *Injury*. 2006;37(Suppl 1):S30-40.
92. Evans C, Ghivizzani S, Herndon J, Robbins P. Gene therapy for the treatment of musculoskeletal diseases. *J Am Acad Orthop Surg*. 2005;13(4):230–42.
93. Wang Y, Li Q, Wei X, Xu J, Chen Q, Song S, et al. Targeted knockout of TNF- $\alpha$  by injection of lentivirus-mediated siRNA into the subacromial bursa for the treatment of subacromial bursitis in rats. *Mol Med Rep*. 2015;12(3):4389–95.
94. Ministerio de la Presidencia. Real Decreto 53/2013. Boletín Oficial del Estado. 2013;34:11396–421.
95. López-Lacomba J, García-Cantalejo J, Sanz Casado J, Abarrategi A, Correas Magaña V, Ramos V. Use of rhBMP-2 activated chitosan films to improve osseointegration. *Biomacromolecules*. 2006;7(3):792–8.
96. Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth E, Bromage N, Bunyan J, et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Lab Anim*. 1996;30(4):293–316.
97. Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J Histochem Cytochem*. 2014;62(10):751–8.
98. Åström M, Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *Clin Orthop*. 1995;1995(316):151–64.

99. Grumet RC, Hadley S, Diltz MV, Lee TQ, Gupta R. Development of a new model for rotator cuff pathology: the rabbit subscapularis muscle. *Acta Orthop*. 2009;80(1):97–103.
100. Derwin K, Baker A, Codsi M, Iannotti J. Assessment of the canine model of rotator cuff injury and repair. *J Shoulder Elb Surg*. 2007;16(5 Suppl):S140–8.
101. Sonnabend D, Young A. Comparative anatomy of the rotator cuff. *J Bone Jt Surg Br*. 2009;91(12):1632–7.
102. Craik J, Mallina R, Ramasamy V, Little N. Human evolution and tears of the rotator cuff. *Int Orthop*. 2014;38(3):547–52.
103. Soslowsky L, Carpenter J, DeBano C, Banerji I, Moalli M. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elb Surg*. 1996;5(5):383–92.
104. Tornero-Esteban P, Hoyas J, Villafuertes E, Rodríguez-Bobada C, Guinea-Tortuero G, Lópiz Y, et al. Tratamiento comparado de las lesiones del manguito rotador mediante el uso de células madre mesenquimales en combinación con membranas de colágeno tipo I. *Trauma (Spain)*. 2012;23(suppl. 1):70–5.
105. Buchmann S, Walz L, Sandmann GH, Hoppe H, Beitzel K, Wexel G, et al. Rotator cuff changes in a full thickness tear rat model: Verification of the optimal time interval until reconstruction for comparison to the healing process of chronic lesions in humans. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2011;131(3):429–35.
106. Killian M, Cavinatto L, Ward S, Havlioglu N, Thomopoulos S, Galatz L. Chronic degeneration leads to poor healing of repaired massive rotator cuff tears in rats. *Am J Sport Med*. 2015;43(10):2401–10.
107. Ciampi P, Scotti C, Nonis A, Vitali M, Di Serio C, Peretti G, et al. The benefit of synthetic versus biological patch augmentation in the repair of posterosuperior massive rotator cuff tears. A 3-year follow-up study. *Am J Sport Med*. 2014;42(5):1169–75.
108. Abarrategi A, Lópiz-Morales Y, Ramos V, Civantos A, López-Durán L, Marco F, et al. In vivo comparison of the effects of rhBMP-2 and rhBMP-4 in osteochondral tissue regeneration. *J Biomed Mater Res A*. 2010;95(4):1132–4.
109. Lahiji A, Sohrabi A, Hungerford D, Frondoza C. Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. *J Biomed Mater Res*. 2000;51(4):586–95.
110. Liu M, Zheng H, Chen J, Li S, Huang J, Zhou C. Chitosan-chitin nanocrystal composite scaffolds for tissue engineering. *Carbohydr Polym*. 2016;152:832–40.
111. Melamed E, Beutel B, Robinson D. Enhancement of acute tendon repair using chitosan matrix. *Am J Orthop*. 2015;44(5):212–6.
112. Gossia E, Tonndorf R, Bernhardt A, Kirsten M, Hund R, Aibibu D, et al. Electrostatic flocking of chitosan fibers leads to highly porous, elastic and fully biodegradable anisotropic scaffolds. *Acta Biomater*. 2016;17:S1742-7061-8.
113. Funakoshi T, Majima T, Iwasaki N, Suenaga N, Sawaguchi N, Shimode K, et al. Application of tissue engineering techniques for rotator cuff regeneration using a chitosan-based hyaluronan hybrid fiber scaffold. *Am J Sport Med*. 2005;33(8):1193–201.
114. Park D, Choi B, Zhu S, Huh J, Kim B, Lee S. Injectable bone using chitosan-alginate gel/mesenchymal stem cells/BMP-2 composites. *J Craniomaxillofac Surg*. 2005;33(1):50–4.
115. Bharatham B, Bakar A, Zuki N, Perimal E, Yosuf L, Hamid M. Development and characterization of novel porous 3D alginate-cockle shell powder nanobiocomposite bone scaffold. *Biomed Res Int*. 2014;2014(7):146723. doi: 10.1155/2014/146723.
116. Fernandes G, Wang C, Yuan X, Liu Z, Dxiak R, Yang S. Combination of controllably released platelet rich plasma alginate beads and bone morphogenetic protein-2 gene modified mesenchymal stem cells for bone regeneration. *J Periodontol*. 2016;87(4):470–80.

117. Priddy L, Chaudhuri O, Stevens H, Krishnan L, Uhrig B, Willett N, et al. Oxidized alginate hydrogels for BMP-2 delivery in long bone defects. *Acta Biomater.* 2014;10(10):4390–9.
118. Madl C, Mehta M, Duda G, Heilshorn S, Mooney D. Presentation of BMP-2 mimicking peptides in 3D hydrogels directs cell fate commitment in osteoblasts and mesenchymal stem cells. *Biomacromolecules.* 2014;15(2):445–55.
119. Namba J, Shimada K, Saito M, Murase T, Yamada H, Yoshikawa H. Modulation of peritendinous adhesion formation by alginate solution in a rabbit flexor tendon model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007;80(1):273–9.
120. Park Y, Sugimoto M, Watrin A, Chiquet M, Hunziker E. BMP-2 induces the expression of chondrocyte-specific genes in bovine synovium-derived progenitor cells cultured in three-dimensional alginate hydrogel. *Osteoarthritis Cartil.* 2005;13(6):527–36.
121. He X, Liu Y, Yuan X, Lu L. Enhanced healing of rat calvarial defects with MSCs loaded on BMP-2 releasing chitosan/alginate/hydroxyapatite scaffolds. *PLoS One.* 2014;9(8):e104061. doi: 10.1371/journal.pone.0104061.
122. Berasi S, Varadarajan U, Archambault J, Cain M, Souza T, Abouzeid A, et al. Divergent activities of osteogenic BMP2, and tenogenic BMP12 and BMP13 independent of receptor binding affinities. *Growth Factors.* 2011;29(4):128–39.
123. Lee K, Lee J, Kim Y, Shim Y, Jang J, Lee K. Effective healing of chronic rotator cuff injury using recombinant bone morphogenetic protein-2 coated dermal patch in vivo. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2016. doi: 10.1002/jbm.b.33716.
124. Gimbel J, Van Kleunen J, Mehta S, Perry S, Williams G, Soslowsky L. Supraspinatus tendon organizational and mechanical properties in a chronic rotator cuff tear animal model. *J Biomech.* 2004;37(5):739–49.
125. Zalavras C, Gardocki R, Huang E, Stevanovic M, Hedman T, Tibone J. Reconstruction of large rotator cuff tendon defects with porcine small intestinal submucosa in an animal model. *J Shoulder Elb Surg.* 2006;15(2):224–31.
126. Ide J, Kikukawa K, Hirose J, Iyama K, Sakamoto H, Fujimoto T, et al. The effect of a local application of fibroblast growth factor-2 on tendon-to-bone remodeling in rats with an acute injury and repair of the supraspinatus tendon. *J Shoulder Elb Surg.* 2009;18(3):391–8.
127. James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra A. Tendon: biology, biomechanics, repair, growth factors, and evolving treatment options. *J Hand Surg Am.* 2008;33(1):102–12.
128. Kilborn SH, Trudel G, Uhthoff H. Review of growth plate closure compared with age at sexual maturity and lifespan in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2002;41(5):21–6.
129. Kovacevic D, Gulotta LV, Ying L, Ehteshami JR, Deng XH, Rodeo SA. rhPDGF-BB promotes early healing in a rat rotator cuff repair model. *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(5):1644–54.
130. Saul K, Hayon S, Smith T, Touhy C, Mannava S. Postural dependence of passive tension in the supraspinatus following rotator cuff repair: a simulation analysis. *Clin Biomech.* 2011;26(8):804–10.
131. Friedman AJ, Phan J, Schairer D, Champer J, Qin M, Blecher K, et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of chitosan-alginate nanoparticles: a targeted therapy for cutaneous pathogens. *J Invest Dermatol.* 2013;133(5):1231–9.
132. Shim J, Kim S, Park J, Kundu J, Kim S, Kang S, et al. Three-dimensional printing of rhBMP-2-loaded scaffolds with long-term delivery for enhanced bone regeneration in a rabbit diaphyseal defect. *Tissue Eng Part A.* 2014;20(13–14):1980–92.
133. López-Morales Y, Abarrategi A, Ramos V, Moreno-Vicente C, López-Durán L, López-Lacomba JL, et al. In vivo comparison of the effects of rhBMP-2 and rhBMP-4 in

- osteocondral tissue regeneration. *Eur Cell Mater*. 2010;20:367–78.
134. Chen CH, Chang CH, Wang KC, Su CI, Liu HT, Yu CM, et al. Enhancement of rotator cuff tendon-bone healing with injectable periosteum progenitor cells-BMP-2 hydrogel in vivo. *Knee Surg Sport Traumatol Arthrosc*. 2011;19(9):1597–607.
  135. Zara J, Siu R, Zhang X, Shen J, Ngo R, Lee M, et al. High doses of bone morphogenetic protein 2 induce structurally abnormal bone and inflammation in vivo. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(9–10):1389–99.
  136. Kim JG, Kim HJ, Kim SE, Bae JH, Ko YJ, Park JH. Enhancement of tendon-bone healing with the use of bone morphogenetic protein-2 inserted into the suture anchor hole in a rabbit patellar tendon model. *Cytotherapy*. Elsevier Inc; 2014;16(6):857–67.
  137. Barco R, Encinas C, Valencia M, Carrascal MT, Garcia-Arranz M, Antuña S. Terapia celular con células troncales derivadas del tejido adiposo (ASC) para mejorar el proceso de reparación en suturas tendinosas. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*. 2015;59(1):3–8.

## 9.2 Por orden alfabético

- Abarrategi A, Lópiz-Morales Y, Ramos V, Civantos A, López-Durán L, Marco F, et al. *In vivo* comparison of the effects of rhBMP-2 and rhBMP-4 in osteochondral tissue regeneration. *J Biomed Mater Res A*. 2010;95(4):1132–4.
- Åström M, Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *Clin Orthop*. 1995;1995(316):151–64.
- Baker A, McCarron J, Ran C, Iannotti J, Derwin K. Does augmentation with a reinforced fascia patch improve rotator cuff repair outcomes? *Clin Orthop Relat Res*. 2012;470(9):2513–21.
- Balke M, Schmidt C, Dedy N, Banerjee M, Bouillon B, Liem D. Correlation of acromial morphology with impingement syndrome and rotator cuff tears. *Acta Orthop*. 2013;84(2):178–83.
- Barclay F, Arcuri F, Paparatto A. Manguito rotador: Histología de la normalidad a la patología. *Artroscopia*. 2011;18(1):30–6.
- Barco R, Encinas C, Valencia M, Carrascal MT, Garcia-Arranz M, Antuña S. Terapia celular con células troncales derivadas del tejido adiposo (ASC) para mejorar el proceso de reparación en suturas tendinosas. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*. 2015;59(1):3–8.
- Beltran J, Bencardino J, Mellado J, Rosenberg Z, Irish R. MR arthrography of the shoulder: variants and pitfalls. *Radiographics*. 1997;17(6):1403–12.
- Bentley G. *European surgical orthopaedics and traumatology*. Springer: London; 2014. p 861–1104.
- Berasi S, Varadarajan U, Archambault J, Cain M, Souza T, Abouzeid A, et al. Divergent activities of osteogenic BMP2, and tenogenic BMP12 and BMP13 independent of receptor binding affinities. *Growth Factors*. 2011;29(4):128–39.
- Bharatham B, Bakar A, Zuki N, Perimal E, Yosuf L, Hamid M. Development and characterization of novel porous 3D alginate-cockle shell powder nanobiocomposite bone scaffold. *Biomed Res Int*. 2014;2014(7):146723. doi: 10.1155/2014/146723.
- Blitz E, Viukov S, Sharir A, Shwartz Y, Galloway J, Pryce B, et al. Bone ridge patterning during musculoskeletal assembly is mediated through SCX regulation of Bmp4 at the tendon-skeleton junction. *Dev Cell*. 2009;17(6):861–73.
- Buchmann S, Walz L, Sandmann GH, Hoppe H, Beitzel K, Wexel G, et al. Rotator cuff changes in a full thickness tear rat model: Verification of the optimal time interval until

- reconstruction for comparison to the healing process of chronic lesions in humans. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2011;131(3):429–35.
- Bunker DLJ, Ilie V, Ilie V, Nicklin S. Tendon to bone healing and its implications for surgery. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4(3):343–50.
- Carbonel I, Martinez AA, Calvo A, Ripalda J, Herrera A. Single-row versus double-row arthroscopic repair in the treatment of rotator cuff tears: A prospective randomized clinical study. *Int Orthop.* 2012;36(9):1877–83.
- Ciampi P, Scotti C, Nonis A, Vitali M, Di Serio C, Peretti G, et al. The benefit of synthetic versus biological patch augmentation in the repair of posterosuperior massive rotator cuff tears. A 3-year follow-up study. *Am J Sport Med.* 2014;42(5):1169–75.
- Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth E, Bromage N, Bunyan J, et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commision. *Lab Anim.* 1996;30(4):293–316.
- Codman E, Akerson I. The pathology associated with rupture of the supraspinatus tendon. *Ann Surg.* 1931;93(1):348–59.
- Craik J, Mallina R, Ramasamy V, Little N. Human evolution and tears of the rotator cuff. *Int Orthop.* 2014;38(3):547–52.
- Cukierman E, Pankov R, Yamada K. Cell interactions with three-dimensional matrices. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14(5):633–9.
- Chen CH, Chang CH, Wang KC, Su CI, Liu HT, Yu CM, et al. Enhancement of rotator cuff tendon-bone healing with injectable periosteum progenitor cells-BMP-2 hydrogel *in vivo*. *Knee Surg Sport Traumatol Arthrosc.* 2011;19(9):1597–607.
- Chen H, Su Y, Chan T, Su Y, Syu W, Harn H, et al. Human adipose-derived stem cells accelerate the restoration of tensile strength of tendon and alleviate the progression of rotator cuff injury in a rat model. *Cell Transpl.* 2015;24(3):509–20.
- Cheng B, Ge H, Zhou J, Zhang Q. TSG-6 mediates the effect of tendon derived stem cells for rotator cuff healing. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(2):247–51.
- Cheung E, Silverio L, Sperling J. Strategies in biologic augmentation of rotator cuff repair: a review. *Clin Orthop Relat Res.* 2010;468(6):1476–84.
- Cho C, Lee S, Lee Y, Shin H. Mini-open suture bridge repair with porcine dermal patch augmentation for massive rotator cuff tear: surgical technique and preliminary results. *Clin Orthop Surg.* 2014;6(3):329–35.
- Cho N, Lee B, Rhee Y. Arthroscopic rotator cuff repair using a suture bridge technique: is the repair integrity actually maintained? *Am J Sport Med.* 2011;39(10):2108–16.
- Davis AD, Kakar S, Moros C, Kaye EK, Schepsis AA, Voloshin I. Arthroscopic versus open acromioplasty: A meta-analysis. *Am J Sports Med.* 2010; 38(3): 613–18.
- Derwin K, Baker A, Codsi M, Iannotti J. Assessment of the canine model of rotator cuff injury and repair. *J Shoulder Elb Surg.* 2007;16(5 Suppl):S140–8.
- Desmeules F, Boudreault J, Roy J, Dionne C, Frémont P, Macdermid JC. The efficacy of therapeutic ultrasound for rotator cuff tendinopathy: A systematic review and meta-analysis. *Phys Ther Sport.* 2015;16(3):276–84.
- Dhillon R, Schwarz E, Maloney M. Platelet-rich plasma therapy - future or trend? *Arthritis Res Ther.* 2012;14(4):219.
- Di Giacomo G, Pouliart N, Constantini A, De Vita A. Atlas of functional shoulder anatomy. Milán: Springer; 2008. p 29–96.
- Edwards SL, Lynch TS, Saltzman MD, Terry MA, Nuber GW. Biologic and pharmacologic augmentation of rotator cuff repairs. *J Am Acad Orthop Surg.* 2011;19(10):583–9.
- Ellman H. Diagnosis and treatment of incomplete rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;254:64–74.
- Escamilla RF, Yamashiro K, Paulos L, Andrews JR. Shoulder muscle activity and function in

- common shoulder rehabilitation exercises. *Sport Med.* 2009;39(8):663–85.
- Evans C, Ghivizzani S, Herndon J, Robbins P. Gene therapy for the treatment of musculoskeletal diseases. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005;13(4):230–42.
- Fam A, Lawry G, Kreder H. Fam's musculoskeletal examination and joint injection techniques. 2<sup>o</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. p 12-22.
- Fernandes G, Wang C, Yuan X, Liu Z, Dxiak R, Yang S. Combination of controllably released platelet rich plasma alginate beads and bone morphogenetic protein-2 gene modified mesenchymal stem cells for bone regeneration. *J Periodontol.* 2016;87(4):470–80.
- Flury M, Rickenbacher D, Schwyzer H, Jung C, Schneider M, Stahnke K, et al. Does pure platelet-rich plasma affect postoperative clinical outcomes after arthroscopic rotator cuff repair? A randomized controlled trial. *Am J Sport Med.* 2016;44(8):2136–46.
- Friedman AJ, Phan J, Schairer D, Champer J, Qin M, Blecher K, et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of chitosan-alginate nanoparticles: a targeted therapy for cutaneous pathogens. *J Invest Dermatol.* 2013;133(5):1231–9.
- Fu S, Wong Y, Chan B, Pau H, Cheuk Y, Lee K, et al. The roles of bone morphogenetic protein (BMP) 12 in stimulating the proliferation and matrix production of human patellar tendon fibroblasts. *Life Sci.* 2003;72(26):2965–74.
- Funakoshi T, Majima T, Iwasaki N, Suenaga N, Sawauchi N, Shimode K, et al. Application of tissue engineering techniques for rotator cuff regeneration using a chitosan-based hyaluronan hybrid fiber scaffold. *Am J Sport Med.* 2005;33(8):1193–201.
- Gadstone J, Bishop J, Lo I, Flatow E. Fatty infiltration and arthropathy of the rotator cuff do not improve after rotator cuff repair and correlate with poor functional outcome. *Am J Sport Med.* 2007;35(5):719–28.
- Galatz LM, Sandell LJ, Rothermich SY, Das R, Mastny A, Havlioglu N, et al. Characteristics of the rat supraspinatus tendon during tendon-to-bone healing after acute injury. *J Orthop Res.* 2006;24(3):541–50.
- Galland A, Airaudi S, Gravier R, Le Cann S, Chabrand P, Argenson JN. Pullout strength of all suture anchors in the repair of rotator cuff tears: A biomechanical study. *Int Orthop.* 2013;37(10):2017–23.
- García Parra P, Anaya Rojas M, Jiménez Bravo B, González Oria M, Muñoz Lisbona M, Gil Álvarez J, et al. Correlación entre la exploración física y los hallazgos intraoperatorios de patología de hombro tratada mediante artroscopia. Análisis estadístico de 150 pacientes. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol.* 2016;60(5):306–14.
- Gartsman GM. Gartsman shoulder arthroscopy, 2nd edition. Houston: Saunders; 2009. p 233–278.
- Gerber C, Schneeberger A, Beck M, Schlegel U. Mechanical strength of repairs of the rotator cuff. *J Bone Jt Surg Br.* 1994;76(3):371–80.
- Giannoudis P, Tzioupis C, Tsiridis E. Gene therapy in orthopaedics. *Injury.* 2006;37(Suppl 1):S30–40.
- Gimbel J, Van Kleunen J, Mehta S, Perry S, Williams G, Soslowsky L. Supraspinatus tendon organizational and mechanical properties in a chronic rotator cuff tear animal model. *J Biomech.* 2004;37(5):739–49.
- Gomoll A, Katz J, Warner J, Millet P. Rotator cuff disorders. *Arthritis Rheum.* 2004;50(12):3751–61.
- Gossia E, Tonndorf R, Bernhardt A, Kirsten M, Hund R, Aibibu D, et al. Electrostatic flocking of chitosan fibers leads to highly porous, elastic and fully biodegradable anisotropic scaffolds. *Acta Biomater.* 2016;17:S1742–7061-(16)30418–8. doi:10.1016/j.actbio.2016.08.022.
- Goutallier D, Postel J, Bernageau J, Lavau L, Voisin M. Fatty muscle degeneration in cuff ruptures: pre- and postoperative evaluation by CT scan. *Clin Orthop Relat Res.*

- 1994;304:78–83.
- Goutallier D, Postel J, Gleyze P, Leguilloux P, Van Driessche S. Influence of cuff muscle fatty degeneration on anatomic and functional outcomes after simple suture of full-thickness tears. *J Shoulder Elb Surg.* 2003;12(6):550–4.
- Grumet RC, Hadley S, Diltz MV, Lee TQ, Gupta R. Development of a new model for rotator cuff pathology: the rabbit subscapularis muscle. *Acta Orthop.* 2009;80(1):97–103.
- Habermeyer P, Magosh P, Lichtenberg S. Classifications of rotator cuff. En: Walch G, Boileau P. *Classifications and scores of the shoulder.* Berlin: Springer; 2006.
- Hakimi O, Chaudhury S, Murphy R, Carr A. Differential growth on sutures of tendon cells derived from torn human rotator cuff. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012;100(3):685–92.
- He X, Liu Y, Yuan X, Lu L. Enhanced healing of rat calvarial defects with MSCs loaded on BMP-2 releasing chitosan/alginate/hydroxyapatite scaffolds. *PLoS One.* 2014;9(8):e104061. doi: 10.1371/journal.pone.0104061.
- Hegedus E, Goode A, Campbell S, Morin A, Tamaddoni M, Oorman C, et al. Physical examination tests of the shoulder: a systematic review with meta-analysis of individual tests. *Br J Sport Med.* 2008;42(2):80–92.
- Hernigou P, Flouzat Lachaniette C, Delambre J, Zilber S, Duffiet P, Chevallier N, et al. Biologic augmentation of rotator cuff repair with mesenchymal stem cells during arthroscopy improves healing and prevents further tears: a case-controlled study. *Int Orthop.* 2014;38(9):1811–8.
- Hodge J. *Musculoskeletal procedures: diagnostic and therapeutic.* 2<sup>o</sup> ed. Georgetown: CRC press; 2003. p 12-28.
- Hurwit D, Fanton G, Tella M, Behn A, Hunt K. Viscoelastic properties of common suture material used for rotator cuff repair and arthroscopic procedures. *Arthroscopy.* 2014;30(11):1406–12.
- Ide J, Kikukawa K, Hirose J, Iyama K, Sakamoto H, Fujimoto T, et al. The effect of a local application of fibroblast growth factor-2 on tendon-to-bone remodeling in rats with an acute injury and repair of the supraspinatus tendon. *J Shoulder Elb Surg.* 2009;18(3):391–8.
- Isaac C, Gharaibeh B, Witt M, Wright V, Huard J. Biologic approaches to enhance rotator cuff healing after injury. *J Shoulder Elb Surg.* 2012;21(2):181–90.
- Itoi, E. Rotator cuff tear: physical examination and conservative treatment. *J Orthop Sci.* 2013;18(2): 197–204.
- James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra A. Tendon: biology, biomechanics, repair, growth factors, and evolving treatment options. *J Hand Surg Am.* 2008;33(1):102–12.
- Kannus P. Structure of the tendon connective tissue. *Scand J Med SCI Sport.* 2000;10(6):312–20.
- Kelly B, Proffen B, Haslauer C, Murray M. Platelets and plasma stimulate sheep rotator cuff tendon tenocytes when cultured in an extracellular matrix scaffold. *J Orthop Res.* 2016;34:623–9.
- Khan Y, Nagy MT, Malal J, Waseem M. The painful shoulder: shoulder impingement syndrome. *Open Orthop J.* 2013;7:347–51.
- Kilborn SH, Trudel G, Uthoff H. Review of growth plate closure compared with age at sexual maturity and lifespan in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2002;41(5):21–6.
- Killian M, Cavinatto L, Ward S, Havlioglu N, Thomopoulos S, Galatz L. Chronic degeneration leads to poor healing of repaired massive rotator cuff tears in rats. *Am J Sport Med.* 2015;43(10):2401–10.
- Kim JG, Kim HJ, Kim SE, Bae JH, Ko YJ, Park JH. Enhancement of tendon-bone healing with

- the use of bone morphogenetic protein-2 inserted into the suture anchor hole in a rabbit patellar tendon model. *Cytotherapy*. 2014;16(6):857–67.
- Klatte-Schulz F, Pauly S, Scheibel M, Greiner S, Gerhardt C, Hartwig J, et al. Characteristics and stimulation potential with BMP-2 and BMP-7 of tenocyte-like cells isolated from the rotator cuff of female donors. *PLoS One*. 2013;8(6):1–13.
- Kong Y, Xu R, Barabi M, Zhong W, Luo G, Xing M, et al. Fast and safe fabrication of a free-standing chitosan/alginate nanomembrane to promote stem cell delivery and wound healing. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:2543–55.
- Kovacevic D, Gulotta LV, Ying L, Ehteshami JR, Deng XH, Rodeo SA. rhPDGF-BB promotes early healing in a rat rotator cuff repair model. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(5):1644–54.
- Kukkonen J, Joukainen A, Lehtinen J, Mattila K, Touminen E, Kauko T, et al. Treatment of nontraumatic rotator cuff tears: a randomized controlled trial with two years of clinical and imaging follow-up. *J Bone Jt Surg Am*. 2015;97(21):1729–37.
- Lahiji A, Sohrabi A, Hungerford D, Frondoza C. Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. *J Biomed Mater Res*. 2000;51(4):586–95.
- Lattouf R, Younes R, Lutonski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J Histochem Cytochem*. 2014;62(10):751–8.
- Le Corroller T, Cohen M, Asward R, Pauly V, Champsaur P. Sonography of the painful shoulder: role of the operator's experience. *Skelet Radiol*. 2008;37(11):979–86.
- Lee K, Lee J, Kim Y, Shim Y, Jang J, Lee K. Effective healing of chronic rotator cuff injury using recombinant bone morphogenetic protein-2 coated dermal patch *in vivo*. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2016. doi:10.1002/jbm.b.33716.
- Liu M, Zheng H, Chen J, Li S, Huang J, Zhou C. Chitosan-chitin nanocrystal composite scaffolds for tissue engineering. *Carbohydr Polym*. 2016;152:832–40.
- Loew M, Magosch P, Lichtenberg S, Habermeyer P, Porschke F. How to discriminate between acute traumatic and chronic degenerative rotator cuff lesions: an analysis of specific criteria on radiography and magnetic resonance imaging. *J Shoulder Elb Surg*. 2015;24(11):1685–93.
- Longo UG, Berton A, Papapietro N, Maffulli N, Denaro V. Epidemiology, genetics and biological factors of rotator cuff tears. *Med Sport Sci*. 2012;57:1–9.
- López-Lacomba J, García-Cantalejo J, Sanz Casado J, Abarrategi A, Correas Magaña V, Ramos V. Use of rhBMP-2 activated chitosan films to improve osseointegration. *Biomacromolecules*. 2006;7(3):792–8.
- Lopiz Y, Garcia-Fernandez C, Vega ML, Marco F. Evaluacion clinico-ecografica de la reparacion quirurgica de las roturas del manguito rotador. *Trauma Fund Mapfre*. 2010;21(2):91–6.
- López-Morales Y, Abarrategi A, Ramos V, Moreno-Vicente C, López-Durán L, López-Lacomba JL, et al. In vivo comparison of the effects of rhBMP-2 and rhBMP-4 in osteochondral tissue regeneration. *Eur Cell Mater*. 2010;20:367–78.
- Lorbach O, Tompkins M, Anagnostakos K. Pathogenesis of rotator cuff tears, implications on treatment. En: *Sports Injuries: Prevention, Diagnosis, Treatment and Rehabilitation*. 2° ed. Berlin: Springer; 2013. p 1–14.
- Lou J, Tu Y, Burns M, Silva M, Manske P. BMP-12 gene transfer augmentation of lacerated tendon repair. *J Orthop Res*. 2001;19(6):1199–202.
- Madhally SV, Matthew HWT. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*. 1999;20(12):1133–42.
- Madl C, Mehta M, Duda G, Heilshorn S, Mooney D. Presentation of BMP-2 mimicking peptides



- in 3D hydrogels directs cell fate commitment in osteoblasts and mesenchymal stem cells. *Biomacromolecules*. 2014;15(2):445–55.
- Majima T, Funakosi T, Iwasaki N, Yamane ST, Harada K, Nonaka S, et al. Alginate and chitosan polyion complex hybrid fibers for scaffolds in ligament and tendon tissue engineering. *J Orthop Sci*. 2005;10(3):302–7.
- McCormack R, Shreve M, Strauss E. Biologic augmentation in rotator cuff repair should we do it, who should get it, and has it worked? *Bull Hosp Jt Dis*. 2014;71(1):89–96.
- McCormick F, Gupta A, Bruce B, Harris J, Abrams G, Wilson H, et al. Single-row, double-row, and transosseous equivalent techniques for isolated supraspinatus tendon tears with minimal atrophy: A retrospective comparative outcome and radiographic analysis at minimum 2-year followup. *Int J Shoulder Surg*. 2014;8(1):15–20.
- Melamed E, Beutel B, Robinson D. Enhancement of acute tendon repair using chitosan matrix. *Am J Orthop*. 2015;44(5):212–6.
- Ministerio de la Presidencia. Real Decreto 53/2013. Boletín Oficial del Estado. 2013;34:11396–421.
- Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sport Med*. 2003;33(5):381–94.
- Namba J, Shimada K, Saito M, Murase T, Yamada H, Yoshikawa H. Modulation of peritendinous adhesion formation by alginate solution in a rabbit flexor tendon model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007;80(1):273–9.
- Oliva F, Piccirilli E, Bossa M, Via A, Colombo A, Chillemi C, et al. Rotator cuff guidelines. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2016;5(4):227–63.
- Omi R, Gingery A, Steinmann S, Amadio P, An K, Zhao C. Rotator cuff repair augmentation in a rat model that combines a multilayer xenograft tendon scaffold with bone marrow stromal cells. *J Shoulder Elb Surg*. 2016;25(3):469–77.
- Ono Y, Woodmass J, Nelson A, Boorman R, Thornton G, Lo I. Knotless anchors with sutures external to the anchor body may be at risk for suture cutting through osteopenic bone. *Bone Jt Res*. 2016;5(6):269–75.
- Park D, Choi B, Zhu S, Huh J, Kim B, Lee S. Injectable bone using chitosan-alginate gel/mesenchymal stem cells/BMP-2 composites. *J Craniomaxillofac Surg*. 2005;33(1):50–4.
- Park Y, Sugimoto M, Watrin A, Chiquet M, Hunziker E. BMP-2 induces the expression of chondrocyte-specific genes in bovine synovium-derived progenitor cells cultured in three-dimensional alginate hydrogel. *Osteoarthritis Cartil*. 2005;13(6):527–36.
- Patte D. Classification of rotator cuff lesions. *Clin Orthop Relat Res*. 1990;254:81–6.
- Pauly S, Klatte F, Strobel C, Schmidmaier G, Greiner S, Scheibel M, et al. BMP-2 and BMP-7 affect human rotator cuff tendon cells *in vitro*. *J Shoulder Elb Surg*. 2012;21(4):464–73.
- Priddy L, Chaudhuri O, Stevens H, Krishnan L, Uhrig B, Willett N, et al. Oxidized alginate hydrogels for BMP-2 delivery in long bone defects. *Acta Biomater*. 2014;10(10):4390–9.
- Randelli P, Randelli F, Ragone V, Menon A, D'Ambrosi R, Cucchi D, et al. Regenerative medicine in rotator cuff injuries. *Biomed Res Int*. 2014;2014:129515. doi: 10.1155/2014/129515.
- Redler L, Thompson S, Hsu S, Ahmad C, Levine W. Platelet-rich plasma therapy: a systematic literature review and evidence for clinical use. *Phys Sport*. 2011;39(1):42–51.
- Rees JL. The pathogenesis and surgical treatment of tears of the rotator cuff. *J Bone Jt Surg Br*. 2008;90(7):827–32.
- Ricchetti E, Aurora A, Iannotti J, Derwin K. Scaffold devices for rotator cuff repair. *J Shoulder Elb Surg*. 2012;21(2):251–65.
- Rodeo SA, Potter H, Kawamura S, Turner A, Kim H, Atkinson B. Biologic augmentation of rotator cuff tendon-healing with use of a mixture of osteoinductive growth factors. *J Bone*

- Jt Surg Am. 2007;89(11):2485–97.
- Ross D, Maerz T, Kurdziel M, Hein J, Doshi S, Bedi A, et al. The effect of granulocyte-colony stimulating factor on rotator cuff healing after injury and repair. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(5):1655–64.
- Sammarco V. Os acromiale: frequency, anatomy, and clinical implications. *J Bone Jt Surg Am*. 2000;82(3):394–400.
- Saul K, Hayon S, Smith T, Touhy C, Mannava S. Postural dependence of passive tension in the supraspinatus following rotator cuff repair: a simulation analysis. *Clin Biomech*. 2011;26(8):804–10.
- Seeherman H, Archambault J, Rodeo S, Turner A, Zekas L, D’Augusta D, et al. rhBMP-12 accelerates healing of rotator cuff repairs in a sheep model. *J Bone Jt Surg Am*. 2008;90(10):2206–19.
- Shane J, Shindle M, Sherman S, Freedman K, Lyman S, MacGillivray D. Systematic review of arthroscopic rotator cuff repair and mini-open rotator cuff repair. *J Bone Jt Surg Am*. 2007;89:127–36.
- Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. 2006;6(2):181–90.
- Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Jt Surg Am*. 2005;87(1):187–202.
- Shen P, Lien S, Shen H, Lee C, Wu S, Lin L. Long-term functional outcomes after repair of rotator cuff tears correlated with atrophy of the supraspinatus muscles on magnetic resonance images. *J Shoulder Elb Surg*. 2008;17(1 Suppl):1S–7S.
- Shim J, Kim S, Park J, Kundu J, Kim S, Kang S, et al. Three-dimensional printing of rhBMP-2-loaded scaffolds with long-term delivery for enhanced bone regeneration in a rabbit diaphyseal defect. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(13-14):1980–92.
- Snyder S. Rotator cuff lesions. Acute and chronic. *Clin Sport Med*. 1991;10(3):595–614.
- Sonnabend D, Young A. Comparative anatomy of the rotator cuff. *J Bone Jt Surg Br*. 2009;91(12):1632–7.
- Soslowsky L, Carpenter J, DeBano C, Banerji I, Moalli M. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elb Surg*. 1996;5(5):383–92.
- Tashjian R. Epidemiology, natural history, and indications for treatment of rotator cuff tears. *Clin Sport Med*. 2012;31(4):589–604.
- Terry G, Chopp T. Functional anatomy of the shoulder. *J Athl Train*. 2000;35(3):248–55.
- Thomopoulos S, Harwood FL, Silva MJ, Amiel D, Gelberman RH. Effect of several growth factors on canine flexor tendon fibroblast proliferation and collagen synthesis *in vitro*. *J Hand Surg Am*. 2005;30(3): 441–47.
- Thomopoulos S, Parks WC, Rifkin DB, Derwin KA. Mechanisms of tendon injury and repair. *J Orthop Res*. 2015;33(6):832–9.
- Tornero-Esteban P, Hoyas J, Villafuertes E, Rodríguez-Bobada C, Guinea-Tortuero G, López Y, et al. Tratamiento comparado de las lesiones del manguito rotador mediante el uso de células madre mesenquimales en combinación con membranas de colágeno tipo I. *Trauma (Spain)*. 2012;23(suppl. 1):70–5.
- Tornero-Esteban P, Hoyas JA, Villafuertes E, Rodríguez-Bobada C, López-Gordillo Y, Rojo FJ, et al. Efficacy of supraspinatus tendon repair using mesenchymal stem cells along with a collagen I scaffold. *J Orthop Surg Res*. 2015;14(10):124.
- Valencia Mora M, Ruiz Ibán M, Díaz Heredia J, Barco Laakso R, Cuéllar R, García Arranz M. Stem cell therapy in the management of shoulder rotator cuff disorders. *World J Stem Cells*. 2015;7(4):691–9.
- Walton J, Bowman N, Khatib Y, Linklater J, Murrell GA. Restore orthobiologic implant: not recommended for augmentation of rotator cuff repairs. *J Bone Jt Surg Am*.

- 2007;89(4):786–91.
- Wang L, Khor E, Lim L. Chitosan - Alginate - CaCl<sub>2</sub> system for membrane coat application. *J Pharm Sci*. 2001;90(8):1134–42.
- Wang Y, Li Q, Wei X, Xu J, Chen Q, Song S, et al. Targeted knockout of TNF- $\alpha$  by injection of lentivirus-mediated siRNA into the subacromial bursa for the treatment of subacromial bursitis in rats. *Mol Med Rep*. 2015;12(3):4389–95.
- Weinreb JH, Sheth C, Apostolakos J, McCarthy MB, Cote MP, Mazzocca AD. Tendon structure, disease, and imaging. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2014;4(1):66–73.
- Wildemann B, Klatte F. Biological aspects of rotator cuff healing. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2011;1(4):161–8.
- Wong Y, Fu S, Cheuk Y, Lee K, Wong M, Chan K. Bone morphogenetic protein 13 stimulates cell proliferation and production of collagen in human patellar tendon fibroblasts. *Acta Orthop*. 2005;76(3):421–7.
- Würgler-Hauri C, Dourte L, Baradet T, Williams G, Soslowsky L. Temporal expression of 8 growth factors in tendon-to-bone healing in a rat supraspinatus model. *J Shoulder Elb Surg*. 2007;16(5 suppl):S198–203.
- Zalavras C, Gardocki R, Huang E, Stevanovic M, Hedman T, Tibone J. Reconstruction of large rotator cuff tendon defects with porcine small intestinal submucosa in an animal model. *J Shoulder Elb Surg*. 2006;15(2):224–31.
- Zara J, Siu R, Zhang X, Shen J, Ngo R, Lee M, et al. High doses of bone morphogenetic protein 2 induce structurally abnormal bone and inflammation *in vivo*. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(9-10):1389–99.

X.

# ANEXOS

---

## **10.1 Financiación y aportación científica**

### **10.1.1 Financiación**

Este trabajo ha sido realizado gracias al proyecto de Investigación financiado por el Instituto Carlos III (FIS), CIF: G83727115, Expediente: PI13/02136.

Existe una línea de trabajo conjunta entre el COT (Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología) y el IEB (Instituto de Estudios Biofuncionales) de la Universidad Complutense centrada en el estudio de enfermedades musculoesqueléticas, cuya finalidad está orientada al enfoque traslacional y la terapia regenerativa.

### **10.1.2 Aportación científica**

#### **10.1.2.1 Congresos nacionales**

- *Estudio de la reparación de las lesiones del manguito rotador mediante compuestos Transportador-BMP*. Arvinus Camilla, Rodríguez-Bobada Cruz, Civantos Ana, Díaz-Moreno María, Dolz-Gaitón Pablo, Perez Gallego Daniel, Lopiz Morales Yaiza, Marco Martínez Fernando. XXI Congreso Sociedad Española de Investigaciones Quirúrgicas. Madrid 15-16 octubre 2015.

- *Estudio de la reparación de las lesiones del manguito rotador mediante compuestos Transportador-BMP-Células*. Lopiz Morales Yaiza, López-Lacomba José Luis, Arvinus Camilla, Alcobia Díaz Borja, Rodríguez-Bobada González del Campo Maria Cruz, González López Pablo. 52 Congreso Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Valencia 23-25 septiembre 2015.

#### **10.1.2.2 Congresos internacionales**

- *Study of the Reparation of the Rotator Cuff combining Scaffold-BMP2*. Arvinis Camilla, Lopiz Yaiza, Rodríguez-Bobada González del Campo Maria Cruz, Civantos Ana, Marco Fernando. 36 Congress of Scandinavian Rheumatology. Reikiavik 1-3 septiembre 2016.

- *Augmentation with alginate-chitosan scaffold and rhBMP-2 in a chronic rotator cuff rupture model*. Lopiz Yaiza, Arvinis Camilla, García-Fernandez Carlos, Marco Fernando. American Academy of Orthopedic Surgeons 2017 Annual Meeting. San Diego 14-18 Marzo 2017.

Existe además una aportación científica en una revista indexada que está en proceso de revisión:  
RECOT 629: 1-12.